

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1899

THÈSE

N^o

332

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le jeudi 4 mai 1899

PAR

M. PAUL SALMON

NÉ LE 16 AVRIL 1869, A RELIZANE (ORAN)

Interne des hôpitaux de Paris.

Président : M. BUDIN.

Juges : MM.

{	BERGER.
	WALLICH.
	DESGREZ.

SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

1899

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1899

THÈSE

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le jeudi 4 mai 1899

PAR

M. PAUL SALMON

NÉ LE 16 AVRIL 1869, A RELIZANE (ORAN)

Interne des hôpitaux de Paris.

Président : M. BUDIN.

Juges : MM. {
BERGER.
WALLICH.
DESGREZ.



SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

—
1899

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. BROUARDEL.
Professeurs	MM.
Anatomie.....	FARABEUF.
Physiologie.....	CH. RICHET.
Physique médicale.....	GARIEL.
Histoire naturelle médicale.....	R. BLANCHARD.
Chimie organique et chimie minérale.....	GAUTHIER.
Pathologie et thérapeutique générales.....	BOUCHARD.
Pathologie médicale.....	HUTINEL.
Pathologie chirurgicale.....	DEBOVE.
Anatomie pathologique.....	LANNELONGUE.
Histologie.....	CORNIL.
Opérations et appareils.....	MATHIAS DUVAL.
Pharmacologie.....	TERRIER.
Thérapeutique et matière médicale.....	POUCHET.
Hygiène.....	LANDOUZY.
Médecine légale.....	PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	BROUARDEL.
Pathologie expérimentale et comparée.....	LABOULBENE.
	CHANTEMESSE.
	DIEULAFOY.
Clinique médicale.....	POTAIN.
	JACCOUD.
	HAYEM.
	GRANCHER.
Maladie des enfants.....	JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.....	FOURNIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.....	TILLAUX.
	BERGER.
Clinique chirurgicale.....	DUPLAY.
	LE DENTU.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	GUYON.
Clinique ophtalmologique.....	PANAS.
Cliniques d'accouchement.....	N.
	PINARD.

MM.
 ACHARD.
 ALBARRAN.
 ANDRÉ.
 BAR.
 BONNAIRE.
 BROCA.
 CHARRIN.
 CHASSEVANT.
 DELBET.
 GAUCHER.

MM.
 GILBERT.
 GILLE DE LA TOURETTE.
 GLEY.
 HARTMANN.
 HEIM.
 LEJARS.
 LETULLE.
 MARFAN.
 MARIE.

MM.
 MENETRIER.
 NELATON.
 NETTER.
 POIRIER, chef des travaux
 anatomiques.
 RETTERER.
 RICARD.
 ROGER.
 SEBILEAU.

MM.
 THIÉRY.
 THOINOT.
 TUFFIER.
 VARNIER.
 WALTHER.
 WEISS.
 WIDAL.
 WURTZ.

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

PREMIÈRE THÈSE

GLYCOGÈNE ET LEUCOCYTES

Au début de ce travail, nous offrons à nos excellents maîtres dans les hôpitaux nos meilleurs remerciements. Nous avons été l'élève des docteurs CAMPENON, PICQUÉ, WALTHER, RENAULT, HALLOPEAU, JANSELME WIDAL, BARIÉ, FLORAND, FOURNIER, LESAGE, GOURAUD, JACQUET, DUCASTEL.

MM. HANOT, BROUARDEL et NETTER ont droit à notre vive reconnaissance.

Les directeurs MM. DUCLAUX et ROUX, notre illustre maître le professeur METCHNIKOFF, ainsi que tout le personnel de l'Institut Pasteur, nous ont accueilli avec la plus aimable cordialité.

M. le professeur BUDIN, dont nous avons été l'interne, nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

GLYCOGÈNE ET LEUCOCYTES

PAR PAUL SALMON

La démonstration de l'existence du glycogène dans les cellules se fait par l'analyse chimique, les réactions histologiques et la recherche des variations expérimentales. Ces trois procédés se complètent, se contrôlent mutuellement. C'est ainsi que Cl. Bernard a pu établir d'une façon précise l'histoire de la glycogénèse hépatique.

Le globule blanc offre à l'expérimentateur un sujet d'étude en apparence favorable. Pas de nerfs, pas d'intervention du système nerveux. Pas d'influence de l'alimentation. D'où une extrême simplification du phénomène, si on compare le leucocyte à la cellule hépatique, à la fibre musculaire striée¹.

Ces trois ordres de cellules, amœboïde, hépatique et musculaire, présentent une autre différence. Quand l'équilibre physiologique est détruit, le glycogène apparaît dans le leucocyte, tandis qu'il disparaît dans le foie (infections graves)² ou dans le muscle (suractivité fonctionnelle, muscles tétanisés (Weiss)). En d'autres termes, la présence du glycogène a, dans les globules blancs, la valeur d'un fait pathologique. La présence de ce même glycogène a, dans le muscle et le foie, la valeur, non plus d'un fait morbide, mais d'un état normal.

1. A l'état physiologique, la proportion de glycogène du foie varie entre 16 et 71 pour 1000. D'après Langendorff, le foie de la grenouille ne renferme du glycogène que pendant 2 saisons, automne, hiver.

« Le glycogène musculaire est plus stable, chez les animaux à l'état de jeûne que le glycogène hépatique..., glycogène musculaire variable, au point qu'il est impossible de lui assigner une moyenne suffisamment exacte. » FRERICHs, *Tr. du diabète*.

« Le glycogène des globules blancs est encore le plus stable. » LÉPINE. Récents travaux sur la pathogénie des diabètes. *Rev. de méd.* 1896.

2. « La fonction glycogénique s'éteint comme toutes les autres fonctions, à la suite d'une maladie, sous l'influence d'une fièvre grave, de sorte que, dans la plupart des cas, on ne trouve pas dans le foie des malades morts dans les hôpitaux la moindre trace de matière sucrée. » CL. BERNARD. *Leçons de physiologie expérimentale*.

Ce n'est là qu'une anomalie apparente. La glycogénèse a toujours la même signification : c'est une des modalités du fonctionnement de la cellule. Or, à quel moment le globule blanc va-t-il manifester plus nettement sa vitalité, si ce n'est quand l'organisme, menacé, a besoin d'être défendu par ses cellules mobiles. Ce sont justement les phagocytes de Metchnikoff qui vont se remplir de glycogène.

L'organisme animal peut aussi demander protection à l'activité d'autres cellules, hépatique, musculaire. Et ainsi, la glycogénèse acquiert la valeur d'un fait général dans la nutrition et la lutte pour la vie.

Le même raisonnement qui relie la glycogénèse pathologique des leucocytes à la glycogénèse physiologique du foie et du muscle s'applique à la cellule cancéreuse. La cellule du cancer donne les mêmes réactions du glycogène que la cellule de l'épiderme chez l'embryon. Ces cellules, embryonnaire et cancéreuse, sont en voie de prolifération rapide.

La différenciation cellulaire extrême que l'on observe chez les vertébrés explique la localisation du glycogène dans certaines cellules, peau, poumon du fœtus, le foie de l'animal après la naissance, le leucocyte dans des conditions anormales. « Chez les êtres inférieurs qui n'ont pas de foie, la fonction glycogénique reste toujours diffuse comme chez les végétaux ¹. » Le globule blanc peut être considéré comme un de ces êtres inférieurs, unicellulaires, amœboïdes, capables de faire leur propre glycogénèse.

Cl. Bernard a montré l'identité du mécanisme qui relie l'amidon végétal et sa saccharification au glycogène, et à ses transformations.

L'amidon animal, le glycogène se retrouve dans certaines plantes, « amidon des êtres sans chlorophylle », glycogène végétal identique à celui du foie (Errera ²), identique à celui que

1. CL. BERNARD, *Leçons sur les phénomènes de la vie, communs aux animaux et aux végétaux*.

2. ERRERA, *L'épithélium des Ascomycètes et le glycogène des végétaux*. Thèse, Bruxelles, 1882.

Le glycogène chez les Mucorinées. *Bull. Acad. roy. de Belgique*, 3^e sér., t. IV, 1882.

Sur le glycogène chez les Basidiomycètes. *Mém. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1885.

Sur l'existence du glycogène dans la levure de bière. *C. R.*, t. CI.
Les réserves hydrocarbonées des champignons. *C. R.*, t. CI.

l'on a extrait des tissus animaux (Clautrian¹). Et nous retrouvons une glycogénèse simplifiée non seulement au bas de l'échelle animale², mais dans le règne végétal.

L'exemple le plus typique nous est fourni par la cellule de levure. La cellule de levure fait la synthèse et la digestion des hydrates de carbone, du glycogène. Ces phénomènes vitaux de la levure s'étudient dans des conditions très précises, si l'on oppose la cellule de levure, cultivée *in vitro*, au globule blanc observé dans l'organisme animal.

Qu'il s'agisse d'un microbe³, d'un végétal ou d'une cellule animale, nous retrouvons le même mécanisme : sécrétion de diastases, et formation de substances dites de réserve, capables d'assurer la nutrition, la reproduction et la défense de l'organisme.

RÉACTIONS HISTOCHIMIQUES

Le procédé classique et nous pouvons dire unique pour la recherche histologique du glycogène est basé sur l'emploi de l'iode, soit sous forme de solutions, soit en vapeur. L'iode produit avec le glycogène une coloration brun acajou, que l'on peut considérer comme « une réaction physique, tout au plus analo-

1. CLAUTRIAN, Étude chimique du glycogène chez les champignons et les levures, *Mém. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1895.

2. Le glycogène se retrouve chez les invertébrés : larves de mouches et chenilles, intestin de l'insecte et du lombric terrestre (Cl. Bernard, *C. R. Acad. des Sc.*, 1859), le ver à soie pendant la métamorphose (Couvreur et Bataillon, *Soc. de biol.*, 1892). Le glycogène s'amasse chez les crustacés au moment de la mue (Cl. Bernard), comme il se concentre dans les asques (des ascomycètes), vers l'époque de la formation des spores (Errera). On trouve le glycogène dans les parasites animaux : coccidies oviformes du foie des lapins, strongles du poumon des moutons, kystes hydatiques de l'homme (Brault, La glycogénèse dans l'évolution des tissus normaux et pathologiques, *Presse méd.*, 20 janv. 1898). Dans les protozoaires, Bütschli décrit du paraglycogène, Maupas une croix de polarisation dans les corps réfringents des grégarines. Les monocystis du lombric contiennent des grains de paraglycogène avec croix noire à la lumière polarisée (Hennequy, Formation des spores de la grégarine du lombric, *Ann. de micrographie*, 1888-89.) Labbé a reconnu la présence du gl. dans un parasite endoglobulaire, le *Drepanidium* du globule rouge de la grenouille. (*Arch. de zool. exp.*, 1894, p. 193.) Certes, dans les infusoires (*C. R.*, 12 janvier 1880).

Dans les plasmodies de la fleur de tan, Kühne (*Lehrbuch der physiologischen chemie*, 1868) a découvert du glycogène : « Le protoplasme contractile des Myxomycètes (*Aethalium septicum*) contient de très notables quantités de glycogène, dont l'identité avec celui du foie et des muscles embryonnaires est facile à établir. »

3. Dans le charbon cultivé en bouillon ordinaire, on voit des grains réfringents contenus dans le corps de la bactérie, « granulations se colorant fortement en rouge brun, comme le glycogène ». (Podwysotsky et Tarancukhine, *Ann. de l'Institut Pasteur*, août 98.)

gue à un phénomène de teinture » (Duclaux ¹). L'iodure de glycogène n'est « ni une combinaison, ni un composé chimique », c'est simplement une coloration. Nous retrouvons avec l'iodure de glycogène, les expériences et les théories publiées à propos de l'iodure d'amidon (Clautriau).

Si l'on compare ces deux substances, on constate que l'iode glycogène est de beaucoup moins stable que l'iodure d'amidon.

Une solution très étendue d'amidon soluble décolore du glycogène teinté par l'iode.

Dans un tube contenant du sulfure de carbone, on place du liquide iodo-ioduré, et des cellules de levure de bière riches en matière glycogène. Le liquide inférieur, le sulfure de carbone, prend une teinte violette (iode dissous). A la limite intermédiaire entre les deux liquides, les levures, réunies en amas, sont décolorées. Si, au lieu de levures, on a pris, comme exemple, des grains de fécule de pomme de terre, ces grains ont conservé leur teinte bleue, et le liquide supérieur est incolore.

D'une façon générale, les dissolvants de l'iode (et nous ne citons que ceux qui intéressent l'histologiste) sont destructeurs de l'iode glycogène : l'alcool, l'éther, le xylol, les essences. La glycérine, la gélatine, le collodion, le baume au xylol décolorent rapidement les préparations.

De cette fragilité de la teinte brun acajou donnée par l'iode, nous pouvons conclure à l'impossibilité d'obtenir actuellement des colorations combinées. On peut mêler l'hématoxyline, les éosines à l'iode; les résultats sont peu avantageux. Après coloration des globules blancs avec une solution très étendue d'une couleur d'aniline basique, du bleu de méthylène, par exemple, le lavage avec une solution iodo-iodurée, même concentrée, ne révèle plus le glycogène. Il serait cependant utile, pour faciliter la lecture des coupes, de réunir une indication purement chimique, comme la présence du glycogène, avec la coloration des éléments chromatiques.

Cl. Bernard, craignant l'action dissolvante de l'eau, employait « la teinture d'iode acidulée ».

La méthode adoptée par les histologistes, et indiquée par Ehrlich ², est basée sur l'emploi de la gomme iodée. Ce pro-

1. DUCLAUX, *Ann. de Chim. et de Phys.*, 4^e série, t. XXV, et De la réaction de l'iode sur l'amidon, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1894.

2. EHRLICH, *Zeitschf. Klin. Med.*, 1883.

cédé présente un inconvénient : la teinte générale jaune de la préparation. Aussi Ehrlich a proposé un second procédé, plus élégant, où le glycogène apparaît nettement sur le fond clair de la préparation. La préparation est placée dans un vase clos avec des cristaux d'iode, puis montée dans une solution de lévulose « qui a un très grand pouvoir de réfraction » ¹.

Comme nous n'avions pas connaissance de cette méthode, pendant nos recherches, nous avons eu recours à une technique un peu différente.

Tout d'abord, la préparation, encore humide, est exposée aux vapeurs d'iode à la température de 50°. L'iode devient ainsi à la fois un agent de fixation immédiate et un colorant. C'est un réactif fixateur très délicat (au moins aussi précis que l'acide osmique), comme nous l'avions constaté antérieurement, avec les cellules épithéliales de la cornée ².

Puis, deuxième temps, l'on monte dans l'huile de cèdre.

On obtient ainsi des résultats constants et comparables entre eux. Les globules rouges sont brunis, les filaments chromatiques des globules rouges à noyaux finement dessinés. Les leucocytes sont à peine teintés; leur noyau, très pâle, entouré d'un protoplasme jaune paille. C'est dans ou autour de ce protoplasme que le glycogène apparaît sous forme de fines granulations foncées, ou de gouttes brun acajou, tirant sur le rouge. Le contour du noyau est réservé, dessiné, encadré par les taches brunes. Jamais le glycogène n'empiète sur le noyau. Le glycogène coloré par l'iode a un aspect opaque de coagulum, de précipité, qui fait contraste, se détachant nettement sur le fond clair de la préparation.

Concurremment avec les vapeurs d'iode huile de cèdre, nous avons fait usage d'un procédé plus sensible, si possible, qui révèle les traces les plus délicates de la substance glycogène. L'emploi des liquides iodo-iodurés permet en effet au glycogène de se condenser, de s'agglomérer en masses uniques, nettement distinctes, en dehors du protoplasme cellulaire.

Ici, nous devons dire quelques mots du glycogène libre. Il n'y a jamais de glycogène libre, ni dans les exsudats leucocytaires, ni dans le sérum du sang, pas plus qu'il n'existe d'amidon

1. EHRLICH, *Die Anaemie* (1898) 8^e vol., de la *Pathologie de Wothnagel*.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897, p. 304.

dans la sève entre la feuille et les racines. Sorti hors de la cellule qui le produit, le glycogène comme l'amidon circule sous forme de produits solubles, maltose et dextrine dans la plante, glucose pour le glycogène hépatique chez l'animal (Cl. Bernard).

Pour démontrer que le glycogène est une substance intracellulaire, on a examiné les globules blancs après centrifugation. Ou bien, on a admis la non coexistence dans le sérum du glycogène avec sa diastase destructive. Introduit dans le sang de la veine, le glycogène est saccharifié (Schiff ¹, Cl. Bernard ², Bohm et Hoffmann ³). « L'existence démontrée dans la lymphe d'une diastase amylolytique est incompatible avec l'existence du glycogène libre dans le plasma, et au contraire compatible avec sa fixation sur les globules blancs ⁴. » « Il est difficile d'admettre que dans le sang, il existe du glycogène libre ⁵. »

Les auteurs ⁶, les physiologistes en particulier, sont tous d'accord : le glycogène, absent du plasma liquide, est entièrement fixé sur les éléments figurés, sur les leucocytes.

Cependant, Frerichs ⁷ a dessiné du glycogène libre dans le sang, observé histologiquement. D'autres auteurs, Livierato ⁸, Gabritchewsky ⁹, ont tenu compte des granulations brunes, isolées, constatées sur préparations sèches traitées par la gomme iodée.

Nous n'admettons pas plus l'existence que la présence de ces granulations libres. Sur les préparations (vapeurs d'iode, huile de cèdre), toujours le glycogène est intracellulaire ou en rapport direct avec le leucocyte qui le contenait.

1. SCHIFF, *Journal de l'Anat. et la Physiol.*, 1866.

2. CL. BERNARD, *Leçons sur le diabète*, 1877.

3. BOHM et HOFFMANN, *Arch. f. exper. Pathol. und Pharmak.*, 1877.

4. DASTRE, Glycogène de la lymphe, *Arch. de physiol.*, 1895.

5. BOURQUELOT et GLEY, Action du sérum sanguin sur la matière glycogène et sur la maltose, *Soc. de biol.*, 1895.

6. DASTRE, BOUQUELOT et GLEY, HUPPERT, CRAMER, LILIENFELD, etc...

Par contre, Kaufmann admet le glycogène circulant (Sur la présence du glycogène dans le plasma sanguin, *Soc. de biol.*, 1895), mais le glycogène est fabriqué par les globules blancs. La formation du gl. dans les globules blancs, *Soc. de biol.*, 1895.

7. FRERICHS, *Traité du diabète*.

8. LIVIERATO, *Deutsche arch. f. Klin. med.*, liv. III, a vu dans le sang des individus sains peu de glycogène, seulement en dehors des globules.

GOLDBERGER et WEISS, *Wiener Klin. Woch.*, 1897, 24 juin, trouvent dans le sang normal de l'homme du glycogène extracellulaire, entouré d'une zone jaune clair, sans structure.

9. GABRITCHEWSKY, *Mikroskopische Untersuchungen über glykogenreaction im Blut*, *Archiv. für experimentelle pathologie und pharmak.*, 1890.

Grâce à un artifice de préparation, on peut observer la production du glycogène extracellulaire. Ce glycogène extracellulaire n'est autre chose que du glycogène libéré, et l'on peut suivre pas à pas la sortie de la substance glycogénique.

Déjà, après fixation par les vapeurs d'iode, le glycogène se présente sous des aspects variés. Le glycogène dessine des croissants, des anneaux concentriques au contour leucocytaire, et même des boules, des excroissances qui simulent des prolongements amiboïdes. Le fait est dû à la réunion, à la soudure des particules de glycogène et à la tendance de ces masses congglomérées à sortir de la cellule. Il semble que les globules de glycogène, réunis, gonflés par l'iode, ne puissent demeurer dans la cellule blanche, devenue trop étroite. Ce phénomène est facilement visible, si on met une goutte de liquide iodo-ioduré en contact avec des leucocytes vivants et riches en glycogène, du pus blennorrhagique par exemple. Dans un premier temps, les taches brunes deviennent de moins en moins nombreuses pour finir par former une masse unique qui s'accumule à un pôle de la cellule. A ce moment, concentré à la périphérie du leucocyte, le glycogène fait brusquement irruption hors de la cellule. Du globule blanc s'écoule la substance glycogénique sous forme d'une boule absolument arrondie, et rattachée par un pédicule au leucocyte. Cette boule grossit, présente l'aspect d'une sphère plus ou moins opaline¹ et brune, à contours peu accentués. Quelques-unes de ces boules exsudées ont un contour si peu marqué, une teinte opalescente si pâle, qu'elles sont à peine visibles. Leur volume peut égaler celui du globule blanc.

Finalement, le glycogène intracellulaire est devenu entièrement extracellulaire.

Bien que l'on puisse suivre toutes les phases de l'irruption de la goutte glycogénique, ce temps de sortie ne peut être mesuré. Il peut être lent, si le liquide iodo-ioduré pénètre doucement dans la cellule. Il peut être instantané, et cette brusquerie du phénomène explique la rupture de la membrane leucocytaire. Avec un liquide iodo-ioduré faible, on voit nettement la goutte exsudée glycogénique encadrée par deux montants, deux prolon-

1. L'opalescence est un des caractères chimiques des solutions de glycogène. « La fausse solubilité du glycogène, pseudo solution, se retrouve avec l'amidon, l'inuline... C'est une sorte d'empois, à un état de division extrême, capable de polariser la lumière (Brücke). » In ERRERA, *L'épithème des Ascomycètes*.

gements effilés de la membrane d'enveloppe cellulaire, représentant les bords de la déchirure recroquevillés en dehors. S'il y a plusieurs gouttelettes, plusieurs orifices de sortie, le leucocyte, vidé de son glycogène, paraît entouré de pointes.

La boule de substance glycogène reste longtemps en contact avec la cellule originelle, comme retenue par une viscosité, une adhérence particulière. On voit, dans le champ de la préparation, les leucocytes se mouvoir, chacun avec sa sphère brune. Cette sphère, malléable, peut prendre l'aspect d'un croissant.

Puis, la boule glycogénique se détache, devient libre et flotte dans le liquide. Avec certains échantillons de pus, c'est l'aspect d'une véritable émulsion de glycogène, où les boules glycogéniques, de volume et d'intensité de teinte variables, restent longtemps isolées, comme des globules de graisse, puis finissent quelquefois par se réunir.

On peut conserver ces globules libres intacts pendant plusieurs jours, sans qu'il y ait dissolution du glycogène dans le liquide.

C'est avec ce procédé du liquide iodé que l'on peut constater une des caractéristiques du glycogène : la disparition de la teinte brune par la chaleur ¹, à moins de 100°, et la recoloration après refroidissement. Avec les leucocytes du pus, en prenant la précaution de recouvrir d'une lamelle pour empêcher la volatilisation de l'iode, les boules glycogéniques deviennent alternativement invisibles, puis colorées. Cette décoloration complète, suivie de la réapparition de la teinte primitive, se retrouve, on le sait, à propos des divers amidons et dextrines.

Nous n'insisterons pas sur la composition de la boule glycogénique. S'agit-il de glycogène pur, ou de glycogène combiné à la substance albuminoïde? L'iode serait-il révélateur, non seulement du glycogène, mais encore d'autres substances qui ne demandent qu'à sortir du globule blanc? En tout cas, nous avons constaté, dans le phénomène de la coagulation (où le globule blanc jouerait un rôle par exsudation de la thrombase), la non intervention de la goutte teintée par l'iode.

En général, la boule glycogénique est unique, et, pour sortir, le glycogène converge vers une des extrémités de la cellule.

1. La coloration intracellulaire pâlit nettement à une température de 50 à 60° (Errera). L'iodure de glycogène est décoloré entre 65 et 73° (Cautrian).

En ce point, la substance glycogène s'accumule et dessine tout d'abord un croissant. Et ce croissant intracellulaire se retrouve aussi bien dans le leucocyte que dans d'autres variétés de cellules ¹. La situation de cet amas semi-lunaire est-elle indifférente, de même que le départ du glycogène à la périphérie du leucocyte? Ou bien existe-t-il un véritable pôle glycogénique cellulaire, pôle de rassemblement, de sortie de certaines substances protoplasmiques?

Le phénomène est visible dans les cellules épithéliales de la peau. Qu'il s'agisse d'un épithéliome ou d'une tumeur non cancéreuse, on voit les croissants glycogéniques se placer parallèlement les uns par rapport aux autres, leur convexité regardant dans le même sens. Dans leur ensemble, ces croissants dessinent « une sorte de mosaïque » (Brault) ². Cette disposition architecturale du glycogène coagulé est caractéristique selon les variétés de tumeur.

Chose curieuse, la situation de chaque amas semi-lunaire glycogénique n'est nullement commandée par le hasard. Le glycogène s'accumule à un pôle de la cellule épithéliale, pôle de sortie du glycogène. Ce pôle de coagulation concorde avec la tendance de la cellule à s'éliminer vers la superficie de la peau (tumeurs bénignes) ou à proliférer vers la profondeur (épithéliomes). Quelle que soit l'explication, le fait nous a paru constant.

Dans les cancers ³, le croissant glycogénique est situé à la

1. Le croissant glycogénique est signalé par Frerichs dans les globules blancs, sur coupe de pneumonie diabétique. Le glycogène se présente dans le placenta (Godet) et dans la muqueuse vaginale (Schiele) en masses dont la coupe optique est semi-lunaire (cités par Errera). Dans les levures et torulas, mises en contact avec le liquide iodé, nous n'avons constaté ni croissant, ni écoulements du glycogène hors de la cellule.

2. BRAULT, La glycogénèse dans les tumeurs, *Arch. des sciences médicales*, 1896.

3. Nous avons retrouvé la même direction des croissants dans tous les cancers de la peau : épithélioma du nez, ulcère du mamelon de la maladie de Paget (le même parallélisme des croissants se retrouvait dans le ganglion cancéreux correspondant), épithéliome corné greffé sur cicatrice de lupus, épithéliome perlé de la tempe, graine d'épithélioma de la peau de la joue, etc...

Brault a observé la même situation « de la manière amyliacée dans la partie la plus déclive des cellules, celle qui est la plus rapprochée du derme » dans la peau et les cellules épithéliales du col utérin, au voisinage des cancers.

Chez un fœtus de 2 mois 1/2, les croissants glycogéniques de l'épiderme tournaient leur concavité vers la surface extérieure.

Dans les glandes de l'estomac d'un fœtus de 3 mois 1/2, le glycogène coagulé était à la base d'insertion des cellules épithéliales.

base d'implantation de la cellule, la concavité regardant le noyau, la convexité dirigée vers le derme.

Dans les tumeurs bénignes¹, le croissant glycogénique se place au côté opposé de la cellule, la convexité tournée vers la surface cutanée, la concavité vers le derme.

Si l'on prend le tissu cellulaire sous-épithélial comme point de repère, le glycogène a une tendance centrifuge dans les tumeurs bénignes, une tendance inverse dans les néoplasies malignes.

Il ne faudrait pas donner une trop grande importance à la situation du croissant glycogénique, en rapport avec la tendance directrice de la cellule épithéliale². L'action des réactifs fixateurs joue un rôle incontestable. Ainsi, l'on peut, avec des leucocytes, coaguler et colorer le glycogène, sous forme d'amas semi-lunaires disposés concentriquement, régulièrement, dans le même sens, si on fait arriver une goutte du liquide de Cl. Bernard (alcool iodé acétique) sur le bord de la préparation. Le croissant tourne sa convexité dans le sens d'arrivée du réactif. D'autre part, sur coupes histologiques d'une glande sudoripare (au voisinage d'un cancer), l'iode révèle des croissants tous parallèles, placés soit à la base d'insertion, soit au sommet de la cellule, en rapport ou non avec la lumière glandulaire.

Pour affirmer l'existence du glycogène, il suffit de constater avec les vapeurs d'iode la présence des grains, des croissants brun acajou. Dans les cas douteux, on fera le contrôle en examinant les leucocytes frais avec une solution iodo-iodurée. La sortie de la boule glycogénique est typique. Quelquefois, le glycogène, exposé aux vapeurs d'iode, donne au protoplasme leucocytaire l'aspect d'une fine poussière brune, ou bien une teinte marron louche, diffuse; avec le liquide iodé, ce glycogène peu abondant ne tarde pas à se collecter et devient extracellulaire. Au leucocyte est accolée une petite goutte extracellulaire caractéristique.

Nous savons donc reconnaître le glycogène (coloration rouge intra-leucocytaire avec les vapeurs d'iode, teinte brune opales-

1. Par exemple, le *molluscum contagiosum*, les verrues. Dans 2 cas de végétations de la verge, les croissants dirigeaient leur convexité vers la surface, sauf à la partie superficielle de la tumeur où l'orientation était inverse.

2. FABRE DOMERGUE, Les cancers épithéliaux. Théorie de la désorientation cellulaire dans le cancer.

cente de la goutte extraleucocytaire avec les liquides iodés). Nous pouvons préciser, faire la mensuration et la numération relatives des leucocytes glycogénés. Le volume, la quantité et la teinte plus ou moins foncée des boules glycogéniques exsudées par les leucocytes nous ont semblé le meilleur moyen de mensuration. Pour la numération, on ne tiendra compte que des cellules renfermant nettement des grains brun acajou (avec les vapeurs d'iode).

SEL MARIN, GLUCOSE ET GLYCOGÈNE

A l'état normal, le leucocyte ne renferme pas de glycogène.

Placé dans des conditions anormales, le globule blanc peut présenter les réactions de la substance glycogénique. Peut-on, expérimentalement, faire varier la teneur de la cellule en glycogène? En particulier, la glucose augmente-t-elle, dans le globule blanc, la quantité de cette substance?

Cette expérience (transformation d'un hydrate de carbone simple en un corps à molécule plus compliquée, par déshydratation) présente les apparences d'une véritable preuve. Ce serait la démonstration évidente de l'origine du glycogène, de la présence intraprotoplasmique d'un composé hydrocarboné.

Cependant, nous savons, par de nombreuses recherches, que des matériaux variés, aussi bien les albuminoïdes et les graisses que les hydrates de carbone, peuvent contribuer à former du glycogène. Cette synthèse d'un même composé, aux dépens de corps chimiques différents, doit nous mettre en garde contre une interprétation trop simpliste.

Comme modèle dans ce genre d'expériences, nous citerons les travaux des botanistes Bohm, Meyer, Brown et Morris, Laurent², qui ont fait fabriquer de l'amidon par des feuilles,

1. Pour les levures, Kayser (Étude sur la formation du glycogène dans les levures, *Annales de la Brasserie et de la Distillerie*, 25 février 1898) emploie la simple numération. Laurent (Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la levure de bière. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1898, et *Recherches physiologiques sur les levures. Ann. de la Soc. belge de microscopie*, t. XIV) emploie trois procédés de mensuration : transformation du glycogène par un acide en sucre réducteur. Peser avant et après autophagie. Dosage d'alcool après autophagie.

Ces derniers procédés ne semblent pas applicables aux leucocytes. Aucun auteur ne signale les produits résultant de l'autophagie du globule blanc.

2. BOHM, *Chem. Centralbl.*, 1889, t. I, p. 526.

SAPESCHNIKOFF, *Chem. Centralbl.*, 1889, t. II.

BOHM, *Chem. Centralbl.*, 1889, t. I.

BROWN et MORRIS, *Chem. soc.*, t. XLII.

LAURENT. *Bulletin de la Soc. roy. de Belg.*, 1887.

des racines, placées dans des solutions sucrées, et du glycogène par des levures cultivées dans des milieux de composition diverse (LAURENT) ¹.

Nous avons essayé de réaliser la même synthèse du glycogène dans la cellule leucocytaire.

Comme étalon, nous prenons le chlorure de sodium. Après injection intrapéritonéale, soit d'une solution à 10 0/0, soit de la solution physiologique de sel marin, les leucocytes attirés dans le péritoine du cobaye contiennent presque tous une faible quantité de substance brunie par l'iode. Cet exsudat péritonéal se compose en grande partie de polynucléaires, globules blancs très actifs, capables de préserver l'animal contre une dose mortelle de certains microbes (bacille cholérique, par exemple). (ISAEFF.)

Nous pouvons déjà conclure, de la présence du glycogène dans les leucocytes, à une véritable suractivité fonctionnelle, à l'exaltation de la vitalité cellulaire.

Si, au lieu de chlorure de sodium, on injecte de la glycose ou même de l'urine de malades diabétiques dans le péritoine du cobaye, il y a augmentation très nette et du nombre des cellules migratrices attirées dans la cavité péritonéale et du glycogène contenu dans chaque élément. Il semble donc logique de conclure à la transformation de l'un dans l'autre, du dextrose en glycogène.

Cette interprétation n'est pas la vraie. Pour le prouver, nous ferons remarquer, non seulement que les leucocytes ne semblent pas posséder un ferment capable de transformer, de digérer le dextrose ², non seulement que la glycogénèse est indépendante du titre de la solution sucrée, non seulement l'apparition tardive du glycogène intracellulaire, tandis que les globules blancs plongés dans la solution sucrée pendant la première heure ne se colorent pas par l'iode, mais surtout que des substances, pour ainsi dire quelconques, vont provoquer l'apparition du glycogène. Certains agents infectieux produisent dans la cellule migratrice une glycogénèse aussi et même plus abondante que des sucres, le glucose par exemple.

1. LAURENT, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1889.

BOIN, Sur le noyau des levures, *Arch. d'anat. microsc.*, 1898.

2. Le ferment glycolytique, d'origine leucocytaire, n'agirait qu'en dehors de l'organisme (Arthus).

De cette expérience, nous retiendrons le pouvoir chimiotactique positif très prononcé exercé par le glucose sur le leucocyte

LÉVULOSE

Si l'on injecte chez l'animal un sucre doué de pouvoir rotatoire gauche, le lévulose, deux questions se posent. Le globule blanc sera-t-il indifférent ou influencé par la chimiotaxie positive? Ce leucocyte impressionné peut-il transformer le lévulose en glycogène?

D'après les physiologistes, le lévulose peut, dans le foie, faire du glycogène, puis un sucre à rotation droite, le glucose. Presque toutes les feuilles produisent de l'amidon en abondance quand on les fait flotter dans une solution de lévulose à 10 0/0. Mais, injecté sous la peau, le lévulose n'est plus transformé dans l'économie. Et Pasteur a montré que certaines cellules végétales savaient distinguer entre des substances à action différente sur la lumière polarisée, les acides tartriques par exemple. Le caractère d'asymétrie de structure est en rapport avec la nutrition, l'assimilation.

Chez le cobaye, après injection intrapéritonéale de lévulose (20 c. c. d'une solution de lévulose pur cristallisé à 10 0/0, filtré à froid sur filtre Chamberland), les phénomènes qui se déroulent sont identiques à ceux observés pour le glucose. Ces deux sucres diffusibles présentent une même chimiotaxie positive à distance suivie d'un même afflux de polynucléaires et d'une même abondante glycogénèse, après la première heure. Si l'on examine l'urine du cobaye, trois quarts d'heure après l'injection, le liquide réduit abondamment la liqueur de Fehling et dévie à gauche la lumière polarisée. Le lévulose a passé intact dans l'urine. Nous pouvons conclure, avec les mêmes raisons données à propos du glucose : le lévulose ne peut être absorbé, transformé directement en glycogène par les leucocytes. La glycogénèse de ces cellules ne répond pas à la simplicité d'une équation chimique qui donnerait la formule et la synthèse du glycogène, en partant de sucres à molécule simple, glucose, lévulose.

SACCHAROSE

Les considérations émises sur la possibilité de rendre assimilables les sucres injectés sont à peu près les mêmes pour le

saccharose et le lévulose. Injecté sous la peau ou dans le sang, le saccharose passe dans l'urine non transformé.

Nous connaissons dans certaines cellules végétales, *aspergillus niger*, levures, une diastase capable de dédoubler le saccharose. Y a-t-il de la sucrase dans l'organisme animal? Le fait est très douteux. Après injection d'une solution de saccharose dans le péritoine des cobayes, comme *in vitro* avec du liquide d'ascite (à la température de 37° et de 50°), nous avons observé une légère augmentation du pouvoir réducteur, mesuré avec la liqueur de Fehling titrée. Nous pouvons conclure avec Duclaux¹ : « La sucrase physiologique, c'est-à-dire sécrétée d'une façon normale par les cellules et les tissus des animaux, semble une substance très peu répandue, beaucoup moins que les autres diastases digestives. » En effet, il existe dans le sérum sanguin des diastases capables de transformer les hydrates de carbone, le maltose en glucose² par exemple, et, comme nous le verrons plus loin, l'amidon et le glycogène.

Si, au lieu d'employer, comme pour la recherche de la sucrase, du saccharose filtré à froid sur le filtre Chamberland, on utilise du sucre de canne stérilisé à 115° à l'autoclave, le liquide renferme en abondance du sucre interverti. Après injection dans la cavité péritonéale du cobaye, on observe une leucocytose et une glycogénèse abondantes. Nous recommandons ce procédé très simple pour obtenir un péritoine préparé, riche en polynucléaires.

AMIDON

Parmi les hydrates de carbone dont l'histoire rappelle celle de la glycogénèse, le plus intéressant est l'amidon. Introduit dans l'organisme animal, cet hydrate de carbone va disparaître, subir une véritable digestion. Une des phases de sa transformation sera la dextrine, dextrine qui présente avec le glycogène les rapports les plus étroits³. Non seulement la dextrine comme le glycogène donne avec l'iode la coloration brun rouge, effacée par la chaleur, mais encore ces substances à formule complexe,

1. DUCLAUX, *Traité de microbiologie*. Tome II, 1899.

2. BOURQUELOT, Recherches sur les propriétés physiologiques de maltose, *Journ. de l'anat. et de la phys.*, 1886.

3. « On peut ranger le glycogène tout près de l'amylo-dextrine. » TOLLENS. *Les hydrates de carbone*, trad. Bourgeois, 1896. Avec bibliographie du glycogène.

à pouvoir rotatoire analogue, à poids moléculaire très élevé, sont susceptibles de donner comme produit final du glucose.

L'amidon injecté sous la peau ou dans la cavité péritonéale d'un cobaye, d'un lapin, est très rapidement saccharifié. En moins de 24 heures chez le lapin, 1 gramme d'amidon ne laisse pour ainsi dire plus de traces.

Comme animal d'expérience, nous avons choisi le cobaye de préférence au lapin. En injectant de fortes doses d'amidon, nous allons pouvoir suivre, heure par heure, les temps divers de la transformation. Nous avons simplement ralenti, pour les saisir au passage, les phases de la digestion du produit inoculé.

Cobaye ayant reçu dans le péritoine 20 c. c. d'empois (fécule de pomme de terre à 1 p. 30, stérilisée à l'autoclave). Au bout d'une heure, le liquide retiré (plusieurs centimètres cubes) réduit abondamment la liqueur de Fehling et bleuit par l'iode. Les leucocytes, peu nombreux, groupés en paquets, ne contiennent pas de glycogène.

Cobaye ayant reçu dans le péritoine 20 c. c. d'empois. Après une heure et demie, on retire 8 c. c. d'un liquide, bleui par l'iode, réduisant abondamment le Fehling, et déviant à droite la lumière polarisée.

En résumé, pendant la première heure, deux phénomènes se sont produits. Le liquide d'empois, blanchâtre, opaque, visqueux, est devenu clair, limpide. C'est la liquéfaction. Le liquide réduit la liqueur de Fehling; c'est la saccharification ¹. Nous n'insistons pas sur ces faits bien connus, qui sont dus à la présence de diastases, l'amylase en particulier, identique à la diastase du malt, du pancréas ². Deux points sont à mettre en relief : l'action de l'amylase *in vitro* comparée à l'action de l'amylase dans les tissus de l'animal d'expérience. Et, d'autre part, l'origine de cette amylase.

In vitro, le maximum d'action de la diastase dépend de la température (60°, contrairement à l'organisme animal dans lequel elle agit à 37°) et de la nature du milieu (milieu acide, contrairement aux liquides de l'organisme, neutres ou alcalins). *In vitro*, la transformation de l'amidon, très rapide au début,

1. L'action de l'amylase se manifeste très rapidement dans les tissus de l'animal. Chez le cobaye, le lapin, une demi-heure après injection d'empois d'amidon dans la cavité péritonéale, le liquide clair retiré réduit nettement le Fehling. La réaction est déjà visible moins de 15 minutes après le début de l'expérience.

2. BIAL et ROHMANN ont étudié la diastase saccharifiante du sang et de la lymphe dans une série de travaux. *Archiv. für physiologie*, 1892, 93 et 94.

semble s'affaiblir à mesure que le temps augmente : ralentissement d'action des diastases. Mais la réaction est gênée par la présence des produits de désintégration de l'amidon. Dans la séreuse péritonéale, le maltose, les dextrines, au fur et à mesure de leur production, dialysent rapidement. En d'autres termes, l'amidon placé dans le péritoine se trouve contenu non pas dans un vase clos, mais dans un dialyseur permettant l'évacuation des produits solubles, une fois formés, L'action de la diastase en est facilitée, et la saccharification s'accomplit beaucoup plus rapidement chez l'animal que *in vitro*.

En fait, l'expérience comparative est difficile à réaliser. On ne peut évaluer exactement la surface de la nappe vasculaire qui entoure l'endothélium péritonéal, et il faut ajouter que cette masse liquide est animée d'un mouvement très rapide, le courant sanguin. Ce que l'on peut dire, c'est que, pour obtenir *in vitro*, le même effet que dans l'organisme animal, il faudrait, pour une faible partie d'empois, une très grande quantité de sérum.

L'amylase existe en effet dans le sérum du sang (Cl. Bernard, etc...) comme dans la lymphe (Dial et Röhmman), comme dans notre cavité d'expérience, le péritoine. Nous l'avons trouvée, en abondance, dans le sérum du sang de lapin, comme dans le liquide d'ascite d'un malade atteint de cirrhose du foie ¹.

Mais une objection se pose. La cavité péritonéale contient à l'état normal des globules blancs. Ces cellules peuvent manifester leur action au bout d'un temps très court. Et comme exemple, nous citerons le phénomène de Pfeiffer (transformation des vibrions cholériques en boules dans la cavité péritonéale des cobayes hypervaccinés). Notre maître, M. Metchnikoff a constaté pendant l'heure qui suit l'injection d'une grande quantité d'empois dans le péritoine du cobaye des phénomènes de phagolyse ². Les leucocytes en souffrance se réunissent en amas. A ce moment, laissent-ils sourdre la diastase, l'amylase?

1. On place à l'étuve à 37° l'empois et le sérum. Opérant avec des liquides stériles, on n'ajoute aucun antiseptique. On peut employer du liquide d'ascite retiré depuis longtemps du péritoine; le liquide conserve pour ainsi dire indéfiniment ses propriétés diastasiques.

2. DE VRIES, pour déterminer le poids moléculaire des hydrates de carbone, a appliqué la méthode de plasmolyse, en étudiant l'action des sucres sur le protoplasme des cellules végétales. *C. R. de l'Acad. des sciences*, T. CVI, p. 751.

L'amylose est-elle une diastase sécrétée par les leucocytes ou existe-t-elle, constamment, à l'état normal, dans le sérum? Et dans ce dernier cas, l'amylose aurait comme origine cellulaire le pancréas¹ ou l'intestin et la salive avec leurs bactéries (Duclaux).

Nous pouvons démontrer, que le sérum possède à l'état normal la diastase saccharifiante, et ensuite que les leucocytes ne sont pas la source de l'amylose².

Diverses considérations plaident en faveur de l'origine non leucocytaire³ de la diastase amylolytique. Tout d'abord, sa présence dans les liquides de l'organisme, le sérum du sang aussi bien que les exsudats. Le liquide d'ascite est très riche en amylose. D'autre part, l'urine contient le ferment saccharifiant⁴. Le passage normal de la diastase à travers le rein semble un argument de plus pour écarter l'intervention du globule blanc. De même, la pepsine, la trypsine dialysent et passent du sang dans l'urine. Cependant, les phénomènes de filtration rénale sont des plus complexes : tandis que dans la fièvre typhoïde l'albumine apparaît dans l'urine, la substance agglutinante ne s'y montre pas constante (Widal et Sicard-Achard et Bensaude).

Le phénomène de l'agglutination n'apparaît qu'en dehors de l'organisme (Salimbeni). C'est là une nouvelle différence avec la diastase amylolytique, qui agit de même façon soit *in vitro*, soit dans les divers tissus de l'animal. De telle sorte que les

1. A propos du diabète pancréatique, on s'est demandé quels étaient les rapports qui unissent le glycogène, le ferment saccharifiant et l'hyperglycémie.

Or, le ferment saccharifiant est diminué chez les chiens privés de pancréas (LÉPINE et BARRAL, *Soc. des sc. méd.*, juillet 1890). « Le sang de l'animal privé de pancréas a un pouvoir diastasique plus faible que celui de l'animal normal, ce qui est tout naturel, en raison de l'absence d'une glande qui est une source si importante de ferment diastasique. » LÉPINE : Sur la pathogénie des diabètes, *Revue de méd.*, 1896. Même opinion émise par KAUFMANN : Sur le pouvoir saccharifiant du sang et des tissus chez les chiens diabétiques, *Soc. de biol.*, 1894. De même, après excitation du plexus coeliaque, le pouvoir diastasique du sang de la veine porte ne varie pas (CAVAZZINI, *Lavori del lab. fisiol. di Padova*, 1893-94).

2. Bial a montré que les globules rouges n'avaient aucun rapport avec la sécrétion de l'amylose du sérum.

3. « Rossbach a constaté l'existence d'un ferment amylolytique dans les leucocytes de différents organes, notamment dans ceux des tonsilles. » Cité par METCHNIKOFF : *L'Inflammation*.

4. BÉCHAMP. Sur la néfrozymase, matière albuminoïde ferment de l'urine, *Montpellier méd.*, 1865.

DUBOURG, Recherches sur l'amylose de l'urine, *Thèse doc. sciences*, Paris, 1889.

diastases du sérum, sérases, ne peuvent être classées, séparées des diastases du leucocyte, leucocydasés, d'après leur présence dans les exsudats et leur passage dans l'urine.

De même que les sérases, les leucocydasés agissent à l'intérieur et en dehors de l'organisme, ou seulement dans un de ces cas. Ainsi la plasmase, le pouvoir bactéricide (Bordet), le ferment glycoctique (Arthus), exsudent hors du globule blanc retiré des vaisseaux et ne s'observent que *in vitro*. Mais le phénomène de Pfeiffer se produit aussi bien dans le péritoine qu'en dehors de cette cavité (Metchnikoff, Bordet).

En résumé, les leucocydasés ou diastases d'origine leucocytaire manifestent leur action dans et hors du protoplasme cellulaire, par passage dans le sérum. On ne peut, par analogie, conclure, de la présence constante de l'amylase dans le sérum à sa non origine leucocytaire.

Pour trancher la question, il faut suivre le fonctionnement de la diastase, soit dans un liquide dépourvu de globules blancs, soit dans l'intérieur de ces mêmes cellules amiboïdes.

Injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané du lapin, l'empois d'amidon disparaît très rapidement. Le liquide d'œdème de l'oreille du lapin, le liquide d'hydrocèle, peuvent être considérés comme privés de leucocytes. Nous avons constaté que ces exsudats contenaient la diastase en abondance. Et nous sommes en droit de conclure à la non intervention du leucocyte dans l'origine de l'amylase. La diastase amylolytique se range dans les sérases¹.

Faisons la contre-partie de l'expérience. Étudions les phénomènes consécutifs à l'englobement de l'amidon par la cellule amœboïde. L'amidon intracellulaire reste intact. Ou du moins, l'iode ne révèle pas le pouvoir digestif du leucocyte².

Chez la grenouille, (dont le sérum du sang contient de l'amylase, ainsi que nous l'avons constaté) on introduit dans le sac dorsal sous-cutané des

1. Il est intéressant de faire avec un autre ferment d'ordre digestif les mêmes constatations qu'avec l'amylase. « La lipase, ferment contenu dans le sérum, ne provient pas des globules blancs, lors de la coagulation. » (HAURIOT).

Cependant, bien que très probable, notre conclusion, qui écarte le globule blanc, peut sembler trop affirmative. Par exemple, on sait que la rate, la moelle des os donnent au sérum du sang une partie de leur pouvoir bactéricide.

2. SCHAFER, avec des leucocytes extraits de l'organisme, observe la persistance de la teinte bleue des grains d'amidon englobés. On the alleged digestive capabilities of the white blood-copuscule; a contribution to the physiology of cell-protoplasm. *The British med. j.*, 1882, p. 373.

grains d'amidon de riz, de petites dimensions, par rapport aux cellules phagocytaires de l'animal. Le corps englobé conserve intacts sa coloration et son contenu anguleux, révélés par le réactif iodé. Au bout de plusieurs jours, le grain est encore présent, non attaqué, dans le protoplasme leucocytaire.

Dans le péritoine de la grenouille on injecte de l'empois d'amidon. On constate l'englobement des particules noircies par l'iode. Le globule blanc peut contenir de l'amidon et du glycogène ou seulement l'une de ces substances.

De même, dans d'autres organismes unicellulaires, les Infusoires par exemple, le grain de fécule reste longtemps phagocité, intra-cellulaire, mais non transformé (Metchnikoff).

Cependant, la présence de l'amylase dans la série des êtres vivants forme une chaîne presque continue, de même que le glycogène et l'amidon. — Sécrétion digestive d'origine cellulaire, la diastase amylolytique se retrouve non seulement chez l'homme, chez les vertébrés, non seulement chez les végétaux qui possèdent la chlorophylle et l'amidon, mais chez certains champignons (*amylomyces Rouxii*, par exemple), chez un grand nombre de microbes, les uns non pathogènes¹, les autres pathogènes, comme la bactériidie charbonneuse². « La vertu de faire du sucre, qui est un trait singulier de l'organisation humaine, existe dans certains végétaux (le blé, la vigne) qu'on dirait humanisés » (Michelet, *La Femme*). — Ainsi, par l'existence d'une diastase absolument comparable chez les animaux et les végétaux s'unifie le mode de fonctionnement cellulaire. — « C'est le même mécanisme qui intervient dans le procès digestif de toute cellule vivante³. » (Duclaux.)

Nous avons vu qu'un argument capital en faveur de la non origine leucocytaire de l'amylase est fourni par l'étude des réactions intracellulaires de l'amidon englobé.

1. Selon Pick, l'action saccharifiante diffère d'intensité selon le bacille employé. Il existe des microorganismes capables de former du sucre dans des solutions de glycogène. (*Wiener Klin. Wochenschrift*, 1889.)

2. MAUMUS, Sur la transformation de l'amidon végétal en sucre par le bacille du charbon, *Soc. de biol.*, 1893. Avec une culture de tuberculose humaine sur pomme de terre glycinée, nous avons obtenu la coloration rouge des dextrines.

3. On peut se demander s'il est possible de renforcer la puissance de l'amylase du sérum (l'animal possède une véritable immunité contre l'amidon), comme on donne une résistance artificielle contre certains poisons, certaines toxines. Du sérum du sang de lapins ayant reçu une ou plusieurs injections intrapéritonéales d'empois d'amidon est placé à la température de 37°, en contact avec de l'empois. Nous avons ainsi constaté non pas une augmentation mais une diminution très nette du pouvoir saccharifiant mesuré avec la liqueur de Fehling.

Dans les instants qui suivent l'introduction de l'amidon dans les tissus de l'animal, les produits solubles de la saccharification passent dans la lymphe, dans le sang, et vont provoquer l'afflux leucocytaire au point d'inoculation. C'est la chimiotaxie positive dans toute sa netteté. Un produit chimique, un sucre soluble, va impressionner soit les amœbocytes, soit les centres leucocytopoïétiques, comme faisait le glucose. — C'est le début de la chimiotaxie à distance, l'heure de l'amylase, ou heure préleucocytaire.

Vers la fin de la première heure, les cellules migratrices deviennent de plus en plus nombreuses. — Au début, les lymphocytes et polynucléaires, baignés dans une solution sucrée, ne contiennent pas de glycogène. — Puis les leucocytes polynucléaires apparaissent remplis d'une substance rougie par l'iode et présentant les caractères du glycogène.

Après la phase des polynucléaires, dont le rôle dans l'englobement de l'amidon est peu marqué, les mononucléaires entrent en scène, cellules capables d'absorber les substances inertes, en particulier les débris d'amidon, en même temps que les polynucléaires affaiblis. — Ces mononucléaires, les macrophages de Metchnikoff, leucocytes énormes hypertrophiés pour contenir une grande quantité de corps étrangers, montrent leur protoplasme creusé de vacuoles¹.

A ce moment, l'exsudat péritonéal présente une composition toute particulière. — Avec l'iode, les grands macrophages paraissent bourrés de grains d'amidon bleus. — Dans de rares polynucléaires on trouve des débris colorés en bleu et la teinte brune de la substance glycogène. — Mais on ne voit pas la réaction des dextrines. — Du reste, le liquide péritonéal, examiné dans un tube à essai, donne avec les solutions iodées la coloration bleue de l'amidon. — Avec la liqueur de Fehling, la réduction semble moins abondante qu'au début de l'expérience, pendant l'heure de la diastase.

Quand l'englobement est très avancé, les cellules phago-

1. A côté des cellules migratrices, il est infiniment probable que d'autres éléments entrent en jeu, comme des organes lymphoïdes du péritoine, à fonction phagocytaire. (Ricoux, Des réactions cellulaires consécutives à l'introduction de poudres inertes, *Thèse doct. méd.*, Paris, 1893.) A l'autopsie des animaux qui ont reçu, soit de l'amidon cru, soit de l'empois dans le péritoine, les mésentères et le bord inférieur du foie sont recouverts d'un coagulum blanchâtre, colorable en bleu par l'iode. C'est sur le grand épiploon surtout que s'accumule la substance injectée.

cytès ne vont pas mourir sur place. Et l'on voit les grands macrophages, les derniers en date de l'ordre d'apparition des globules blancs, les derniers appelés dans le fonctionnement leucocytaire (Metchnikoff), prouver leur activité par le passage dans le sang, dans les voies veineuses.

Examinons le sang de la veine porte : avec le liquide iodo-ioduré, on constate la présence des leucocytes, des grands mononucléaires bourrés de fragments d'amidon. Il se produit, partant du foyer de phagocytose, un départ de cellules migratrices, chargées de substances englobées. C'est une véritable diapédèse en retour, en sens inverse.

Dans le cas d'amidon intrapéritonéal, le globule blanc phagocyte joue le rôle d'agent de transport, et le but terminal, son point d'arrivée, c'est le foie.

En effet, comparons la veine porte et la veine cave : le sang de la veine cave ne contient ni macrophages, ni amidon. On peut conclure : le foie est un organe d'arrêt pour les cellules chargées d'amidon.

Nous n'avons pas étudié, dans l'organe hépatique, la façon dont se fait l'échange entre le phagocyte et la cellule du foie.

Le fait principal, que nous allons retrouver à propos des infections, c'est le retour, le passage des globules blancs du foyer de pénétration des corps étrangers dans les voies sanguines.

Nous connaissons, du reste, des constatations analogues. — Cohnheim injecte une poudre colorée dans le sac lymphatique dorsal de la grenouille ; il retrouve des leucocytes chargés de granules colorés dans la cornée cautérisée. Les élèves de Kobert (*Arbeiten, a. d. pharmak. hist.*, Dorpat, 1893-94) ont montré l'englobement des sels de fer par les leucocytes, le passage de ces cellules dans le sang et leur arrêt dans le foie, la rate, les organes hématopoiétiques. Querton¹ a vu les leucocytes chargés de carmin passer du tissu cellulaire dans le sang.

Voici, en résumé, la succession des phénomènes consécutifs à l'introduction de l'empois d'amidon dans le péritoine.

1 ^{re} phase : heure de l'amylase.....	}	Liquéfaction et saccharification.
		Chimiotaxie positive à distance
		par les produits solubles éliminés.
		Phagolyse des leucocytes.

1. Du rôle des cell. migratrices provenant du sang et de la lymphe, etc...
Mémoires de l'Acad. roy. de méd. de Bruxelles - 1897.

- | | |
|---|--|
| 2° phase : arrivée des polynucléaires... | { Pas d'action sur l'amidon phagocyte.
Englobement peu marqué.
Glycogénèse variable. |
| 3° phase : intervention des macrophages | { Englobement rapide des débris d'amidon.
Pas d'action saccharifiante. |
| 4° phase : passage des grands mononucléaires bourrés d'amidon dans le sang. | |
| 5° phase : arrêt dans le foie. | |

L'amidon cru est plus difficile à attaquer que l'amidon partiellement liquéfié, sous forme d'empois, du moins si l'on opère *in vitro*. Dans les tissus de l'animal, l'amidon cru est très rapidement transformé et saccharifié.

On injecte 2 grammes de fécule de pomme de terre et 20 grammes d'eau dans le péritoine d'un cobaye de 500 grammes. Une heure après, le liquide retiré de la séreuse réduit abondamment le Fehling.

Si l'on examine le mode de disparition de l'amidon, on constate, après l'heure de l'amylase, l'intervention des leucocytes¹. Les cellules amiboïdes s'accrochent par leur plus grande surface, s'étalent sur les grains d'amidon qui se désagrègent suivant des fentes radiaires. Les fragments d'amidon sont englobés, puis réduits, dans le protoplasme cellulaire, en débris de plus en plus ténus. Finalement, quand le leucocyte est bourré de ces granulations révélées en noir par l'iode, il passe et se retrouve dans le sang de la veine porte.

Le globule blanc, incapable, en apparence, de digérer le grain d'amidon, peut cependant le fragmenter, le diviser en fines particules. Cette division, cette fragmentation, due en quelque sorte à une diastase granulosante, est à rapprocher de faits analogues : en dehors de la cellule, phénomène de Pfeiffer : transformation en granules du vibrion cholérique ; à l'intérieur de la cellule, transformation des microbes en grains éosinophiles (Metchnikoff, Cantacuzène, Bordet, Mesnil), des spermatocytes (Tettenhamer).

Dans cette expérience, l'amœbocyte peut contenir à la fois

1. En même temps que les leucocytes, des bactéries vont se développer, inoffensives pour l'animal, et jouant comme dans l'intestin un rôle digestif, rôle de symbiose avec le globule blanc. Pour diminuer l'importance des microbes, on a chauffé le mélange injecté (amidon et eau) à la température de 60°, qui laisse intacte la constitution des grains de fécule.

de l'amidon et de la substance glycogène, celle-ci en très faible proportion.

Fait intéressant qui rapproche l'amidon englobé des dextrines : on observe, après 24 heures, sur les préparations (vapeurs d'iode, huile de cèdre), que la teinte noire intraleucocytaire des fragments d'amidon prend la couleur brun rouge des dextrines. De même Musculus, en étendant d'eau l'amidon soluble coloré en bleu par l'iode, voit la teinte passer au violet, puis au rouge.

On peut réaliser, dans le péritoine de l'animal, l'expérience de Musculus, en injectant, soit de l'amidon soluble, soit de la dextrine ¹

Le liquide retiré de la séreuse donne, avec le réactif iodé, la succession de teinte des diverses dextrines, toute la gamme des colorations de l'indigo au brun en passant par le violet, le pourpre, le rouge. Avec la dextrine, au bout d'une heure, le liquide se colore en violet rouge. A la 2^e heure, la teinte est brun rouge. Ces colorations disparaissent par la chaleur pour reparaître après refroidissement. Après 24 heures, l'iode donne une teinte jaune qui s'efface par la chaleur.

Nous n'insisterons pas sur les autres phénomènes de la transformation déjà étudiés avec l'amidon : action saccharifiante des diastases du sérum, intervention phagocytaire des leucocytes, et passage des amœbocytes dans le sang (vers la 48^e heure).

Dans l'injection de dextrine ou d'amidon soluble, les polynucléaires contiennent du glycogène que l'on peut distinguer de la dextrine par les caractères suivants :

Avec le liquide iodo-ioduré, la dextrine, moins fluide, ne diffuse pas hors du globule blanc. Avec les vapeurs d'iode et huile de cèdre, la coloration foncée des dextrines se conserve longtemps, par opposition à la teinte claire et fragile du glycogène. Tandis que le contour arrondi des taches glycogéniques donne l'impression d'un liquide coagulé, les granulations de dextrine, irrégulières de forme, donnent l'illusion de débris solides.

1. L'amidon soluble (préparé par l'acide acétique) dont nous nous sommes servi se colorait en bleu par l'iode et réduisait légèrement la liqueur de Fehling. La dextrine colorée en bleu violet était très proche de cet amidon soluble. Cette dextrine donnait une réduction abondante du liquide cupropotassique.

En général, nous avons injecté chez le cobaye 10 c. c. d'une solution à 10 0/0.

GLYCOGÈNE DANS LES INFECTIONS MICROBIENNES.

VARIATIONS DU GLYCOGÈNE : INFECTIONS AVEC GLYCOGÈNE, INFECTIONS
SANS GLYCOGÈNE

Après l'étude de l'influence de corps chimiques sur la production, non pas du glycogène des leucocytes, mais des leucocytes à glycogène, il est intéressant de comparer l'étude des infections¹ à celle de ces substances. Qu'il s'agisse de microbes, d'agents pathogènes, de sucres ou d'amidon, le tableau cellulaire glycogénique va se montrer semblable : mêmes phénomènes de chimiotaxie à distance pendant la première heure, même afflux de polynucléaires se remplissant de glycogène, même passage dans le sang des globules blancs chargés soit d'amidon soit de glycogène (et probablement, sinon sûrement, des bactéries digérées).

Il semblerait logique de diviser l'étude de la glycogénèse suivant les microbes divers et l'action variable des toxines.

Dans un chapitre final on examinerait la réaction de l'organisme chez l'animal hypervacciné ou immunisé par un sérum thérapeutique. Nous avons cru plus simple et plus conforme aux faits de distinguer les infections en deux catégories : tantôt, la glycogénèse est plus ou moins prononcée ; tantôt, la réaction est à peine visible. Nous pouvons l'affirmer dès maintenant : la glycogénèse cellulaire est absolument fidèle et constante avec chaque espèce d'agent microbien. Les variations de la glycogénèse suivent les modalités variables de l'infection.

Il n'en est pas ainsi pour le foie : la réaction glycogénique des cellules hépatiques n'est pas constante pour des cas semblables d'infection. On a recherché, et le fait intéresse notre sujet, si le foie, le muscle réagissaient, luttaient contre l'invasion microbienne par leur glycogène cellulaire. En cas de maladie grave, la substance glycogène disparaît² de ces organes.

1. « On trouve du glycogène dans tous les produits d'inflammation (exsudat pneumonique, pus récent, néoplasmes aigus, épanchements de toutes sortes) et sa quantité est dans un rapport exact avec l'intensité de la migration des globules blancs. » (FRERICHS, *Tr. du diabète*.)

2. « Si l'on rend un animal malade, on fera disparaître, et au bout de très peu de temps, le sucre dans son foie. » (CL. BERNARD, *Leçons de phys. exp., Influence des maladies sur la formation du glycogène du foie*, page 178.)

« Le glycogène diminue et parfois disparaît à la fin de la maladie charbonneuse : les dosages chimiques sont absolument démonstratifs, l'examen histologique n'est pas moins probant. » (ROGER, *Note sur les var. de la glycogénèse dans l'infection charbonneuse*, *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 9 oct. 1893.)

Nous allons voir que le leucocyte fait exception. Et cette exception s'explique aisément. L'amœbocyte peut être considéré comme un organisme unicellulaire qui vit en parasite sur l'organisme animal; l'abcès, comme une colonie cellulaire. Chaque leucocyte vit et meurt de façon absolument indépendante. Le globule blanc tire du liquide où il séjourne ses aliments, non seulement ses albumines, mais la graisse et la substance glycogène.

C'est ce qui nous explique, dès maintenant, que la présence du glycogène dans les leucocytes n'aura qu'une valeur relative, comme signe de pronostic. Chez des animaux atteints d'une infection grave, la cellule amiboïde, excitée, essaye de réagir, se remplit de glycogène. Au moment où l'organisme en général succombe, le globule blanc peut être en pleine vitalité.

Pour étudier la réaction inflammatoire, nous avons injecté des microbes dans le péritoine, de préférence à l'inoculation dans le tissu cellulaire ou les veines. Il est aisé, dans la cavité séreuse, par des ponctions avec une pipette effilée, de suivre les phases diverses de la glycogénèse leucocytaire.

Nous n'insistons pas sur les phénomènes de la première heure, heure préleucocytaire. Il y a, on le sait, hypoleucocytose dans le sang et dans le péritoine, à la suite de l'introduction des agents infectieux. A ce moment, pas de glycogène dans les globules blancs.

A la fin de la première heure commence l'afflux leucocytaire, et les cellules migratrices (traitées par l'iode) présentent aussitôt, immédiatement¹, la coloration brun acajou caractéristique. Ces cellules sont des mononucléaires et polynucléaires capables de manifester leur activité en englobant les bactéries injectées.

Cette réaction glycogénique, comme la réaction phagocytaire, varie avec les bactéries. D'une manière générale, on peut

Tandis que d'AMATO (Sull' importanza del glicogene epatico nell' azione protettrice del fegato contro l'infezione carbonchiosa, *Il Policlinico*, 1898, et *Arch. ital. de biol.*, 1^{er} mars 1898) n'attribue au glycogène hépatique (augmenté artificiellement) aucun pouvoir protecteur, COLLA (Sul modo di comportarsi del glicogene epatico e muscolare in alcune infezioni sperimentali, *Arch. per. le sc. méd.*, 1896) admet que le glycogène du foie (comme selon nous, l'action protectrice des leucocytes) joue un rôle important dans le pouvoir de résistance de l'organisme contre les bactéries. « Cette substance n'est peut-être qu'un témoin de l'activité des cellules hépatiques. » ROGER, Le rôle du foie dans les infections, *Presse méd.*, 20 déc. 1898.

1. La brusquerie d'apparition du glycogène dans la cellule animale se retrouve dans la formation instantanée de l'amidon et des dextrines chez les végétaux.

dire que tous les germes injectés dont la chimiotaxie positive entraîne comme conséquence une leucocytose abondante, tous ces microbes provoquent en même temps une glycogénèse très nette. En d'autres termes, l'introduction de la plupart des agents infectieux chez l'animal sera suivie d'une grande production de glycogène. La présence du glycogène intraleucocytaire devient un signe de la réaction cellulaire de l'organisme dans l'inflammation.

En effet, après inoculation de bactéries non virulentes ou de microbes pathogènes variés, streptocoques, staphylocoques, choléra peu virulent, etc., les cellules blanches de l'exsudat seront très riches en substance glycogène.

Un cobaye de 595 grammes reçoit dans le péritoine 5 c. c. d'une culture de staphylocoque peu virulent. Au bout de 20 heures, on retire du péritoine un liquide louche, riche en globules blancs.

Recherche du glycogène : les leucocytes contiennent une grande proportion de substance glycogène, peut-être plus grande que dans le cas du glucose intrapéritonéal. On reconnaît facilement les polynucléaires dont les noyaux sont réservés par la teinte brune foncée du protoplasme.

L'exsudat se compose surtout de globules blancs polynucléaires; on y voit aussi de grands mononucléaires dépourvus de glycogène. Quelques-unes de ces grandes cellules contiennent une tache brun acajou, reliquat protoplasmique d'un polynucléaire englobé par le macrophage.

Coloration avec les couleurs d'aniline : à côté des grands mononucléaires ayant englobé ou non les polynucléaires avec leur contenu microbien, la phagocytose est terminée dans les polynucléaires; il n'y a plus de cocci libres.

En résumé, phagocytose parfaite, glycogénèse abondante.

Cliniquement, chez l'homme, on peut observer les mêmes phénomènes dans une foule de circonstances. Il y a déjà longtemps, Frerichs a vu et dessiné le glycogène dans les cellules multinucléées d'un écoulement blennorrhagique. Ehrlich donne les leucocytes de la blennorrhagie comme le type des leucocytes à glycogène. Dans le pus de plusieurs malades atteints de blennorrhagie aiguë nous avons constamment trouvé une quantité plus ou moins abondante de substance brunie par l'iode. Le malade subit une véritable perte cellulaire. Il s'écoule en grand nombre des globules blancs expulsés en pleine activité, ayant accompli la phagocytose totale des gonocoques et remplis de glycogène.

Dans d'autres affections où le microbe était aussi peu viru-

lent que le gonocoque, les staphylococcies pures (liquide des bulles de l'impétigo par exemple), nous avons constaté une glycogénèse très prononcée.

Mais il nous faut, pour préciser l'histoire de la glycogénèse, recourir à l'inoculation chez l'animal, quitte à interpréter les cas de clinique humaine à l'aide de ces faits expérimentaux. Le premier problème que l'expérience doit résoudre se pose de la façon suivante : quelle est l'influence sur la glycogénèse d'un microbe dont on fait varier la virulence ? En d'autres termes, le glycogène du leucocyte, signe de vitalité cellulaire, diminue-t-il à mesure que s'élève la virulence de l'agent infectieux ?

Étudions l'action d'un microbe à chimiotaxie positive : le staphylocoque doré. Deux cultures sont injectées dans le péritoine de deux cobayes, avec cette différence que dans l'un des tubes de bouillon le staphylocoque a été tué par l'ébullition. Au bout de 6 heures, examinons la lymphe péritonéale. Dans les deux cas, chez le cobaye qui a reçu le microbe mort, comme chez l'animal infecté par le microbe vivant, l'exsudat présente les mêmes caractères : leucocytose abondante, formée surtout par les polynucléaires, présence du glycogène en grande quantité dans toutes les cellules. La réaction leucocytaire est en somme (avec un microbe peu dangereux) à peu près semblable, qu'il s'agisse d'un microbe mort ou vivant.

Étudions maintenant la réaction cellulaire si on se sert d'un microbe à chimiotaxie inverse, négative : le charbon par exemple. (Nous ne nous occupons ici que de l'hypoleucocytose locale, et non de la réaction leucocytaire sanguine.)

Il se produira peu ou pas d'afflux leucocytaire, et dans le liquide d'œdème, pauvre en globules blancs, on rencontre surtout des lymphocytes. Fait intéressant, dans cette infection si grave par le charbon, les leucocytes essayent de réagir, au point d'inoculation ; ils contiennent du glycogène non seulement dans les polynucléaires, mais encore les lymphocytes. On retrouve du reste la même glycogénèse des petits mononucléaires dans le liquide d'œdème provoqué par l'essence de térébenthine en injection sous-cutanée chez le cobaye.

Au lieu de faire l'inoculation de la bactérie sous la peau, faisons l'injection dans le péritoine : nous verrons plus facilement coexister microbes et glycogène leucocytaire.

Charbon bactérien : culture de 24 heures en bouillon. Inoculation sous-cutanée d'une dose tuant le cobaye en moins de 48 heures. Cobaye ayant succombé. Étude du liquide d'œdème : présence de petits lymphocytes et de phagocytes ordinaires (poly et mononucléaires). Microbes très nombreux sous forme de longs bâtonnets. Recherche du glycogène : traces de glycogène dans quelques leucocytes.

2^e expérience : inoculation intra péritonéale d'une même dose (1 c. c. de culture en bouillon et 3 c. c. d'eau physiologique). A la 19^e heure, l'animal est sacrifié. Lymphes péritonéales louche, peu abondante, contenant de nombreux polynucléaires et de grands macrophages. Recherche du glycogène : grande netteté de la glycogénèse intra cellulaire.

De sorte que si l'on compare les deux modes d'inoculation, on voit se produire des analogies et des différences. Dans les deux cas, pas de phagocytose. Sous la peau, bacilles très allongés; bacilles courts dans la séreuse. Différences de morphologie cellulaire : lymphocytes sous la peau; macrophages et polynucléaires dans le péritoine. Différence de réaction cellulaire : leucocytes rares dans l'œdème sous-cutané, lymphes péritonéaux riches en cellules blanches. Différences dans la glycogénèse : très prononcée dans le péritoine, atténuée sous la peau, parallèle dans les deux points à la leucocytose.

Si l'on injecte non plus la bactérie vivante, mais un microbe tué, les phénomènes se dérouleront d'une façon un peu différente. Le faible afflux leucocytaire, et l'absence de phagocytose seront analogues dans les deux cas; de même pour l'œdème au point d'inoculation. Cependant la glycogénèse sera bien moins accentuée (dans le péritoine en particulier) que dans l'expérience avec le bacille vivant, pour une raison simple : contre le microbe mort les leucocytes semblent réagir faiblement; et surtout, la composition cellulaire de l'exsudat est modifiée par la présence de globules blancs à granulations spéciales, exagérées par l'iode, éosinophiles. Le protoplasme de cette variété de leucocytes ne donne jamais les réactions du glycogène.

Un cobaye de 400 grammes reçoit dans le péritoine 1 c. c. de culture de charbon bactérien tué par l'ébullition. 44 heures après l'inoculation, le cobaye est sacrifié. Liquide péritonéal peu abondant. Les bacilles ont disparu. Glycogénèse peu prononcée et seulement dans quelques leucocytes.

La plupart des globules blancs ont un noyau en fer à cheval ou bien coupant diamétralement la cellule. D'autres éléments contiennent deux noyaux. Le protoplasme est rempli de granulations régulières, à contour net, rendu plus réfringent par l'emploi du liquide iodé. Ce liquide teint les granulations en brun foncé, teinte bien différente de la coloration brun rouge du glycogène. De plus, avec le liquide iodé on ne voit pas la boule glycogénique sortir de la cellule. Ainsi s'explique la pauvreté en glycogène des leucocytes de la

lymphe péritonéale. Par la combinaison du liquide iodoioduré et de l'éosine à l'eau, ou par l'éosine seule, on constate qu'il s'agit de granulations éosinophiles.

Quel est le mode d'action d'un même germe pathogène, suivant qu'il s'agit d'un microbe normal ou d'un microbe à virulence exaltée? Il semble, *a priori*, qu'en inoculant un agent infectieux capable de tuer l'animal en quelques heures, on doive produire sur les leucocytes des lésions très prononcées.

Nous avons comparé plusieurs échantillons de streptocoques. Après injection dans le péritoine des cobayes soit d'un streptocoque de virulence ordinaire, soit d'un streptocoque spécial, le streptocoque de la gourme, il se produit, dans les heures qui suivent, une abondante leucocytose, avec des polynucléaires remplis de glycogène. Le streptocoque de la gourme produit une glycogénèse très remarquable en rapport avec une phagocytose rapide.

Injectons au contraire un streptocoque extrêmement virulent (streptocoque de Marmorek en culture bouillon ascite), le cobaye succombe rapidement. Dans l'exsudat, la chimiotaxie négative très prononcée a empêché l'afflux leucocytaire, mais non le glycogène d'apparaître dans les leucocytes du péritoine, en particulier les petits lymphocytes. L'expérience est de tous points comparable à celle du charbon. Nous pouvons donc conclure : un microbe à virulence aussi prononcée que celle du streptocoque de Marmorek, microbe capable de tuer l'animal en quelques heures, ne produit pas de lésions sur les leucocytes en contact avec l'agent pathogène. Au contraire, le globule blanc, cellule indépendante, ne reste pas indifférent; il essaye de réagir, comme le prouve sa glycogénèse effectuée en plein foyer infectieux.

On peut prouver d'une autre façon qu'un agent aussi nocif pour l'économie animale que le streptocoque de Marmorek ne lèse pas les leucocytes. Le contraste est d'autant plus net que ce microbe qui respecte les globules blancs passe dans le sang où il peut détruire les globules rouges.

Chez un animal qui a reçu au préalable 10 c. c. d'une solution de glucose à 10 0/0, on constate à la quatrième heure la présence de polynucléaires nombreux et remplis de glycogène. A ce moment, on injecte dans le foyer leucocytaire plusieurs doses

mortelles du streptocoque de Marmorek. Rapidement l'animal souffre, puis succombe. Si l'on examine les cellules migratrices du péritoine soit avant, soit après la mort, on constate la persistance du glycogène et l'aspect normal du noyau et du protoplasme cellulaires.

Dans le foyer inflammatoire où les chaînettes du streptocoque se sont abondamment développées, les leucocytes sont restés inaltérés. Cette conservation du glycogène et de l'intégrité des globules blancs cadre parfaitement avec les observations de Bordet. Cet auteur a démontré que les leucocytes incapables d'englober le streptocoque de Marmorek, protégé par sa chimiotaxie négative, étaient encore doués de la propriété de phagocyter d'autres microbes.

En résumé, le phénomène de la glycogénèse se produit sans relation forcée avec le fait de la phagocytose ¹. La glycogénèse est relativement indépendante du pouvoir chimiotactique des microbes qui explique si bien le mode de fonctionnement des globules blancs dans l'inflammation.

*
* *

Dans le chapitre précédent nous avons étudié les microbes à glycogénèse abondante. Nous avons constaté deux ordres de faits : des microbes à chimiotaxie positive ou négative produisent une glycogénèse analogue mais une leucocytose différente ; des microbes très virulents peuvent ne pas détruire le glycogène et la cellule qui le contient. Les leucocytes sont non seulement capables de lutter, de digérer, mais encore de résister pour leur propre compte aux agents de destruction.

Les microbes ne peuvent-ils entamer cette intégrité du protoplasme leucocytaire ? Ou bien, à côté des bactéries incapables d'attaquer la cellule la plus résistante peut-être de l'économie

1. Dans le cas de l'englobement cellulaire des bactéries, le glycogène peut-il coexister dans un même élément avec les microbes phagocytés ? Dans la péritonite staphylococcique du cobaye, dans la blennorrhagie uréthrale, où tous les microbes sont phagocytés, où tous les leucocytes sont glycogénés, un globule blanc contient à la fois les cocci et la substance glycogène. Chez la grenouille, après inoculation d'une bactérie volumineuse, le bacille charbonneux par exemple, on peut voir le microbe et le glycogène, tous deux contenus dans la même cellule.

D'autre part, tandis que les grands macrophages en sont dépourvus, les lymphocytes, éléments non phagocytes, contiennent du glycogène.

animale, le globule blanc, connaissons-nous des agents pathogènes destructeurs de cet élément? Et dans ce cas, la règle formulée sur les rapports de la virulence des agents infectieux et leur innocuité pour le leucocyte ne serait vraie que pour certains microbes. Y a-t-il des microbes qui s'adressent de préférence à la cellule du globule blanc, comme le tétanos attaque la cellule nerveuse, comme le phosphore altère la cellule hépatique?

Van de Velde a répondu à cette question et il a donné au poison altérant des leucocytes le nom de « leucocidine, à cause de l'action destructrice, leucocide, que ce produit exerce sur le leucocyte ».

Les bactéries capables de produire une lésion des cellules migratrices se divisent en deux catégories. Les unes possèdent naturellement une leucocidine, les autres ne sont nocives pour le globule blanc qu'artificiellement, après exaltation de leur virulence.

Van de Velde¹ a étudié les effets produits par un staphylocoque rendu très virulent pour le lapin. Outre la perte des mouvements amœboïdes, cet auteur a constaté que les noyaux des amœbocytes devenaient nettement visibles et le protoplasme clair et moins granuleux. En outre, Van de Velde a remarqué que le microbe sécrète deux substances dont l'électivité cellulaire est bien spécifique; ces poisons présentent de l'affinité : la leucocidine pour les globules blancs, la toxine pour d'autres variétés d'éléments cellulaires.

Comme conséquence, on peut entrevoir la possibilité de découvrir, à côté des sérums antitoxiques, des sérums destructeurs des leucocidines². Ou bien sera-t-il possible de renforcer la résistance naturelle des agents de l'immunité, les leucocytes?

Van de Velde, avec d'autres microbes, coli-bacille, streptocoque, fièvre typhoïde, pneumocoque... n'a pas observé de leucocidine.

Grâce aux travaux de M. Georgiewsky, dans le laboratoire de M. Metchnikoff, nous avons pu constater l'action d'un microbe très intéressant, capable de sécréter une leucocidine puissante et de produire des lésions cellulaires typiques.

1. VAN DE VELDE, Étude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène. *La Cellule*, t. X, 1894.

2. DENYS et VAN DE VELDE, Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. *La Cellule*, t. XI, 1895.

Un cobaye reçoit 5 c. c. d'une solution de glucose à 10 0/0 en injection intrapéritonéale. A la 5^e heure, on retire une goutte de l'exsudat par ponction, et on constate la présence de leucocytes riches en substance glycogène. A ce moment, on injecte plusieurs doses mortelles d'un bacille pyocyanique très virulent, tuant l'animal en moins de 19 heures.

3 heures 1/2 après l'inoculation microbienne, on ponctionne le péritoine. Les globules blancs présentent une altération caractéristique. A la 18^e heure, les cellules migratrices sont presque toutes transformées. On trouve cependant de rares polynucléaires ayant conservé intacts leurs noyaux, leurs fines granulations protoplasmiques et leur glycogène.

La leucocidine du pyocyanique agit sur la substance nucléaire et sur le protoplasme. Protoplasme clair, vidé, réduit à un amas de granulations teintées par l'éosine et placées dans une encoche du noyau ; disparition totale du glycogène. Les noyaux multiples des polynucléaires se sont fondus en une masse unique, hypertrophiée, vacuolaire, qui occupe la presque totalité de la cellule. L'aspect à l'état frais ou après emploi de l'iode et des colorants est très caractéristique.

Les cellules si complètement transformées par l'action nocive du pyocyanique ne sont pas simplement en état de souffrance ; elles ont succombé. Tout le prouve, non seulement les lésions observées, mais l'absence de phagocytose et de mouvements amiboïdes (Georgiewsky). A la 19^e heure, nous avons constaté, dans le sang de la veine porte, la présence de polynucléaires à noyaux nettement dessinés, à protoplasme intact et rempli de glycogène, mais nullement la présence des globules blancs modifiés. Ces globules morts ne peuvent émigrer hors du foyer inflammatoire.

En somme, la disparition rapide du glycogène préexistant devient un signe pathologique. Elle démontre éloquemment que le glycogène n'apparaît que dans le globule blanc vivant.

Nous ne pouvons insister sur l'intérêt que présentent les recherches de M. Georgiewsky, en particulier sur l'isolement de deux substances bien distinctes : l'une, toxine tuant rapidement l'animal sans produire d'altérations des amœbocytes, l'autre, diastase mortelle pour le globule blanc.

Si l'on compare la leucocidine du pyocyanique de Georgiewsky avec la leucocidine du staphylocoque de Van de Velde, on voit que les lésions cellulaires sont différentes. Le mode d'action des poisons du globule blanc serait donc variable suivant leur origine microbienne. C'est ce que l'on peut constater avec

la seconde catégorie des poisons du globule blanc, les leucocidines pour ainsi dire naturelles.

Si l'on consulte la bibliographie, « le virus diphtérique est un poison nécrotisant... On peut constater la présence de leucocytes nécrosés, dont les noyaux désagrégés ont l'aspect de petites boules fort colorées ¹ ». Nous ferons remarquer simplement que Bordet ² n'a pas observé les lésions des leucocytes placés en contact *in vitro* avec la toxine diphtérique. Van de Velde, expérimentant avec le bacille diphtérique, n'a pas constaté d'altérations des cellules migratrices.

Plus nette que dans la diphtérie, l'action nécrotisante du bacille de la tuberculose a suscité de nombreuses recherches. Le bacille de Koch sécrète en effet une substance capable de produire des lésions multiples des globules blancs. Le pus prend un aspect particulier, c'est la dégénérescence caséuse. On sait que cette matière nocive se retrouve dans le corps des bacilles morts comme chez le bacille vivant. Et l'on a extrait des microbes de la tuberculose des substances variées douées du pouvoir de produire la caséification.

En général dans le liquide de la péritonite tuberculeuse (cobayes), dans le pus d'un abcès tuberculeux, on trouve un certain nombre de leucocytes avec glycogène. A ces leucocytes à vitalité exaltée s'opposent les globules blancs sans glycogène : les uns vivants et indifférents, les autres morts ou altérés.

Dans le pus d'abcès tuberculeux sous-cutané chez le cobaye, comme dans le pus d'abcès froid chez l'homme, les aspects du protoplasme et du noyau leucocytaires sont extrêmement variables. Dans la plupart des cellules on constate la présence de globules inégaux, brillants (dégénérescence dite grasseuse), globules pouvant coexister dans une même cellule avec la substance glycogène.

A propos de la caséification se place une parenthèse sur les rapports de la dégénérescence grasseuse avec la glycogénèse. Dans le pus tuberculeux, et aussi dans le pus de quelques abcès chauds (nous avons vu une abondante glycogénèse et une

1. GABRITCHEWSKY, Du rôle des leucocytes dans l'infection diphtérique. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894.

2. BORDET, Recherches sur la phagocytose. *Ann. de l'Institut Pasteur*.

grande quantité de globules gras dans le pus d'un anthrax chez un diabétique), le protoplasme leucocytaire peut contenir ces deux variétés de substances. L'origine réciproque des corps gras et des hydrates de carbone, la transformation de ces matériaux l'un dans l'autre est une question ouverte¹.

De cette étude des leucocidines se manifestant par des lésions du protoplasme et du noyau de la cellule migratrice, un fait général se dégage : la résistance du leucocyte à la destruction par les agents venus du dehors. Mais, au lieu d'examiner les amœbocytes dans leur élément, le sérum de l'animal, retirons-les de l'organisme. La cellule placée dans des conditions défavorables, nous allons obtenir la disparition du glycogène et des autres éléments du protoplasme et des altérations visibles de la chromatine du noyau.

L'expérience la plus simple consiste à maintenir des polynucléaires riches en glycogène (pus blennorrhagique par exemple) dans un tube contenant de l'eau distillée bouillie, à la température de 37°. Peu après, 2 heures 1/2, on constate une transformation évidente de certains éléments. La cellule, agrandie, a doublé de volume. Le protoplasme clair n'a plus son aspect finement granuleux. Le contour des noyaux nettement visible, arrondi, est très réfringent. Dans certains polynucléaires, les noyaux se sont agglomérés en un noyau unique, par fusion de la chromatine. L'exsudat, primitivement composé de cellules multinucléées, devient un exsudat à mononucléaires. Cette lésion se retrouve identique dans les observations de Van de Velde² avec la leucocidine staphylococcique, de Bordet avec le sel

1. Pavy, Seegen admettent que les corps gras constituent les matériaux de la glycogénie (SEEGEN, *La glycogénie animale*, traduction Hahn, 1890). Dans le foie, le glycogène peut se transformer en une graisse très oxydable (TSCHÉRINOFF), en acides gras supérieurs. (SLOSSE, De l'utilisation du glycogène dans le foie soumis à la vie résiduelle, *Ann. de la Soc. R. des sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 1897.) Slosse rapproche cette constatation de la dégénérescence graisseuse du foie. Sabrazès pense que « le glycogène provient d'une transformation de la graisse opérée par les cellules migratrices dans l'intimité de leur protoplasme... » (Sur un processus de transformation de la graisse en matière glycogène, *C. R. Soc. de biol.*, 1896.)

COUVREUR, Sur la transformation de la graisse en glycogène chez le ver à soie pendant la métamorphose, *Soc. de biol.*, 95.

Dans le même ordre de phénomènes, les botanistes (Mohl, Sachs) prouvent que l'amidon forme de l'huile et réciproquement, et le glycogène devient de l'huile dans les spores (Errera).

2. « Le protoplasme semble se vider complètement, tandis que le noyau perd sa forme polymorphe pour se concentrer en une petite boule ronde. »

marin¹ et la description des leucocytes de l'Axolotl laissés trois jours en chambre humide (Jolly)².

Si l'on emploie le liquide iodo-ioduré, la coloration est inverse de l'état normal : protoplasme incolore et noyau foncé. Quant au glycogène, il a complètement disparu de ces cellules mortes, tandis que dans un tube témoin (eau et 8 p. 1,000 de NaCl) la substance glycogène est conservée ainsi que l'aspect normal des cellules.

Avec les colorants, le centre du noyau apparaît clair, sans réseau chromatique; la périphérie forme un anneau régulier, fortement teinté et comme plissé.

En résumé, le protoplasme et le noyau, œdématisés, vidés, décolorés, donnent l'impression d'une cellule gonflée de liquide. Les leucocytes placés dans des solutions différentes du sérum normal (ou des solutions physiologiques de sel marin) sont le siège d'échanges osmotiques destructeurs, par perte de l'équilibre physiologique entre le liquide et la cellule. C'est un phénomène analogue à la sortie de l'hémoglobine des globules rouges placés dans des solutions non isotoniques.

Ainsi s'explique que des globules blancs, dans des liquides très différents, présenteront une altération analogue. Les cellules d'un exsudat riche en polynucléaires et en glycogène (après injection intrapéritonéale de glucose) sont placées dans une série de tubes de bouillon peptoné et salé à la température de 37°. On ensemente à la fois les leucocytes et un microbe, staphylocoque, bactériidie charbonneuse. Quelques heures après, on examine les leucocytes. Dans le bouillon pur, un certain nombre de cellules présentent l'aspect hydropique, les autres sont intactes. Dans le bouillon où se développe le staphylocoque, un grand nombre de globules blancs sont altérés, les lésions sont les mêmes que dans le tube précédent. A côté de ces leucocytes morts, on observe des éléments non transformés et dans quelques cellules le glycogène visible et diminué. Avec le charbon, même conclusion; au milieu des bactéries qui ont proliféré en abondance, on remarque des cellules blanches, les unes intactes, les autres présentant la transformation produite par le bouillon simple. On peut penser qu'un microbe en poussant abondamment

1. « Les leucocytes à noyau fragmenté acquièrent ainsi, pour la plupart, l'apparence de leucocytes mono ou dinucléaires. » *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1896.

2. JOLLY. Des différents types de globules blancs. *Arch. de méd. exp.*, 1898.

dans le liquide de culture n'a pas causé directement la mort du leucocyte. *In vitro* comme dans les tissus de l'animal, le microbe n'a produit ni leucocidine spécifique ni lésions démonstratives. En plaçant des globules de pus blennorrhagique à 37°, dans du liquide d'ascite et dans du bouillon, le glycogène disparaît plus rapidement dans le premier tube. Cependant les germes, non pas le gonocoque mais le staphylocoque, prolifèrent moins abondamment dans le tube d'ascite que dans le tube de bouillon.

Dans l'organisme animal le globule blanc, soit englobé par un leucocyte macrophage¹, soit après pénétration dans les cellules épithéliales : cellules de l'intestin, peau, cornée (vaccine et variole), etc... et probablement cellules épithéliomateuses du cancer, le globule blanc présente comme signe de destruction du polynucléaire la chromatolyse de son noyau. Grâce à l'emploi des colorants, on constate que les noyaux, après perte du réseau chromatique, se transforment en grains plus ou moins ténus, plus ou moins foncés.

Ce chapitre sur les dégénérescences et la mort du globule blanc nous amène à cette conclusion : le glycogène est un témoin de la vitalité cellulaire au même titre que la phagocytose, les mouvements améboïdes. Le glycogène est donc un signe précieux de l'état de santé ou de malaise de la cellule. Et à ce point de vue, son étude intéresse la biologie générale. On a donné cependant à la glycogénèse des leucocytes une tout autre signification.

On a prétendu tout d'abord qu'il s'agissait d'une dégénérescence des leucocytes, en particulier la dégénérescence amyloïde. Mais le globule blanc, dès la fin de la première heure, dès son arrivée dans le foyer inflammatoire, présente la teinte brun acajou avec l'iode. Au contraire, la réaction cellulaire terminée, les leucocytes ne se colorent plus en brun. D'autre part, les réactifs de l'amyloïde ne donnent pas avec les cellules de pus la coloration caractéristique ; des globules blancs riches en glycogène ne sont pas teints en rouge par le violet de méthyle.

De même le glycogène ne peut être le résultat de la digestion cellulaire, des microbes par exemple ; la glycogénèse pré-

1. On voit souvent dans le grand mononucléaire les noyaux multiples des polynucléaires se confondre en une masse unique de chromatine.

cède la phagocytose des microbes ou lui est concomitante, disparaît à la fin de l'infection, chez l'animal guéri, et n'est pas plus abondante avec des bactéries mortes ou vivantes.

On a voulu faire, de la présence du glycogène dans les leucocytes, une caractéristique de la cellule du pus. Contre cette opinion, il suffit de constater que les amyloocytes se retrouvent dans le sang avec leur glycogène. D'autre part, il existe des suppurations avec une minime glycogénèse.

C'est une théorie ancienne, celle qui définissait le pus : une collection de cellules mortes. La doctrine de la phagocytose de Metchnikoff a démontré parmi ces éléments des suppurations, l'existence de cellules très puissantes, très actives. Et la glycogénèse joue un rôle dans le mécanisme de défense de l'organisme par les globules blancs. A côté de ces éléments glycogénés, à vitalité exaltée, les leucocytes sans glycogène sont les uns inactifs, indifférents, les autres altérés, détruits.

On a dit encore : infection aiguë, glycogénèse abondante ; infection chronique, la tuberculose par exemple, pas de glycogène. En réalité, c'est la leucocidine qui entraîne la lésion leucocytaire et l'absence du glycogène, qu'il s'agisse d'un processus lent ou rapide. En quelques heures, le pyocyanique de Georgiewsky, en quelques jours les microbes dans un panaris produisent la mort du leucocyte et la disparition de la substance glycogène. C'est le microbe qui produit une réaction leucocytaire aussi spécifique, aussi changeante, que sont variables les agents de l'infection et leur virulence.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE. — PRÉSENCE DU GLYCOGÈNE DANS LE SANG ET DANS LA LYMPHE-SYNTÈSE DU GLYCOGÈNE PAR LE LEUCOCYTE

D'où vient le glycogène des leucocytes ? Prend-il son origine dans les organes hématopoïétiques, rate, moelle osseuse, etc. ?... La cellule hépatique joue-t-elle un rôle dans la défense de l'organisme par une sécrétion de matériaux en rapport avec le glycogène ? Ou bien le globule blanc fait-il lui-même la synthèse de cette substance ? Pour résoudre le problème nous allons comparer les phénomènes de la glycogénèse dans le sang, dans le foyer leucocytaire et dans les organes hématopoïétiques.

Pendant l'heure qui suit l'introduction des microbes dans le

péritoine, les leucocytes contenus dans la séreuse ne présentent pas les réactions du glycogène. C'est l'heure de l'hypoleucocytose du sang, de la phagolyse dans le péritoine. Dès le début de la deuxième heure, apparaissent deux phénomènes concomitants : l'afflux d'un nombre de plus en plus grand de cellules migratrices, et la présence du glycogène dans ces éléments. Le glycogène apparaît brusquement sans que l'on puisse préciser le mécanisme de la phase préglycogénique.

Depuis le moment de pénétration du corps étranger, microbes, sucre, amidon... dans l'économie, jusque vers la 20^e heure, il y a un contraste absolu entre les leucocytes du sang et les leucocytes glycogénés du point enflammé. De ce fait, l'absence du glycogène des globules blancs dans les voies de la circulation générale, nous pouvons conclure au silence des organes hématopoïétiques. Si la rate, si les ganglions lymphatiques, la moelle osseuse étaient le foyer de formation du glycogène, cette substance se retrouverait dans le sang, avant de se montrer dans la cavité péritonéale. Du reste, examinés par dessiccation, les leucocytes de la rate ou de la moelle osseuse¹ ne contiennent pas trace de glycogène. Ces organes, si l'on ne consultait que la glycogénèse, ne sembleraient pas jouer un rôle dans la réaction de l'organisme contre l'inflammation. A l'état normal, comme au cours des infections qui ne les atteignent pas directement, les centres hématopoïétiques ne contiennent pas de glycogène.

Pendant ces premières heures, si l'on sacrifie l'animal, on peut constater dans le sang de la veine porte la présence de cellules contenant du glycogène, fait comparable à ce que nous avons observé avec l'amidon. Substance glycogène et amidon intracellulaires passent d'abord dans le système veineux.

Un cobaye reçoit 1 c. c. de culture en bouillon de staphylocoque, dure cinq heures après, le glycogène est très net dans les leucocytes de l'exsudat péri-

1. Chez un cobaye atteint de péritonite due au streptocoque de la gourme, les leucocytes de l'exsudat présentaient le maximum de la glycogénèse. Il n'y avait pas de glycogène dans les globules blancs de la moelle osseuse.

Un cobaye reçoit dans le péritoine 5 c. c. de glucose à 10 0/0. A la 7^e heure la moelle osseuse et la rate ne contiennent pas de glycogène.

Dans la moelle osseuse d'un lapin en voie de guérison de péritonite staphylococcique, pas de glycogène.

Chez un chien avec une péritonite causée par le streptocoque de la gourme, rate sans glycogène, etc...

tonéal et dans le sang de la veine porte tandis que les globules blancs de la veine cave en sont dépourvues. De même, une goutte de sang de l'oreille, prise sur l'animal vivant, ne contient pas de glycogène.

Contrairement à l'amidon, le glycogène traverse le foie et passe dans la circulation générale. Vers la 20^e heure environ, on trouve du glycogène dans le sang pris à l'oreille de l'animal infecté (ou après injection de glucose et de lévulose dans le péritoine) ou au doigt du malade. A ce moment, il y a une relation évidente entre l'état du sang et la constitution du foyer infecté. Dans les deux cas, hyperleucocytose et glycogénèse.

Ce glycogène du sang de l'oreille provient bien de la cavité péritonéale comme le prouve son apparition bien postérieure à la glycogénèse des cellules migratrices au point infecté. La glycogénèse des globules blancs du sang ne précède pas la glycogénèse des éléments du foyer inflammatoire ; elle lui est consécutive.

On peut objecter que dans le péritoine, les conditions sont très favorables au retour dans le sang des cellules migratrices, à cette diapédèse en sens inverse. Mais le même fait s'observe dans l'infection de tout autre tissu. On sait que non-seulement les leucocytes mobiles mais encore des corps inertes peuvent passer dans le sang (microbes de l'influenza, de la diphtérie, pneumocoque, streptocoque, bacille du charbon, etc.).

Il faut donc admettre qu'il s'établit un véritable circuit, où les voies sanguines (veineuses et artérielles) et lymphatiques communiquent largement par l'intermédiaire de la collection leucocytaire, le point infecté.

Le glycogène peut persister dans le sang très longtemps, tant que dure la réaction inflammatoire, le processus leucocytaire. Le parallélisme se poursuit d'un bout à l'autre de la maladie : la présence du glycogène dans le sang nous permet de témoigner la présence du glycogène dans le péritoine, plus tard, la réaction disparaît et nous pouvons affirmer que l'animal est en voie de guérison.

Inoculation dans le péritoine de plusieurs grenouilles de culture en bouillon de bactérie charbonneuse tuant le lapin par inoculation sous-cutanée en moins de 24 heures.

1^{er} animal, sacrifié après 1 heure 1/2. Pas trace de glycogène dans le sang du cœur et la lymphe péritonéale.

24^e heure. Glycogène dans les leucocytes de l'exsudat péritonéal, sauf les éosinophiles; en particulier, les petits mononucléaires, à protoplasme peu abondant, sont entourés d'un mince anneau brun acajou. Toutes ces variétés de leucocytes, lymphocytes et grands mononucléaires, polynucléaires, se retrouvent, remplis de glycogène, dans le sang des vaisseaux fémoraux. (Dans le sang de l'homme, du chien, du lapin ou du cobaye, nous n'avons pas observé la présence de mononucléaires avec glycogène. Cependant, dans la lymphe d'un chien infecté, les mononucléaires étaient colorés en brun acajou.)

Les bactériidies, toutes englobées, sont plus ou moins altérées, digérées. Elles se colorent mal, forment des grains irréguliers, teintés par l'éosine, dans les vacuoles du protoplasme leucocytaire. Avec la thionine, on reconnaît dans les leucocytes du sang, des bâtonnets incolores par place et en voie de disparition.

Chez une troisième grenouille à la 78^e heure, les leucocytes de l'exsudat péritonéal contiennent des bactéries incomplètement transformées et du glycogène. Présence de nombreux éosinophiles. Dans le sang des vaisseaux fémoraux, leucocytes avec glycogène.

En résumé, les leucocytes passent facilement du foyer infecté dans les voies sanguines. Dans le sang, la présence du glycogène dans les grands mononucléaires, lymphocytes et polynucléaires, la présence des traces de bactéries digérées dans le phagocyte, tout prouve que ces globules blancs proviennent du péritoine. Mais on peut objecter la facile communication de la séreuse péritonéale et des voies lymphatiques et sanguines chez la grenouille. Nous allons retrouver le même phénomène chez le lapin.

Un lapin reçoit 3 c. c. d'une culture de staphylocoque peu virulent.

À la 7^e heure, sang de l'oreille : pas de glycogène. Ponction du péritoine, liquide louche, riche en leucocytes, presque tous polynucléaires, tous remplis de glycogène.

À la 24^e heure, sang de l'oreille : globules blancs contenant une grande quantité de glycogène. La numération donne un leucocyte sur deux sans glycogène. Conclusion : le glycogène apparaît dans la circulation générale, bien après sa production dans le foyer infecté.

À la 56^e heure, l'animal peut être considéré comme guéri. Sang de l'oreille : très rares leucocytes avec teinte brun acajou, on peut compter 40 cellules sans glycogène. Sang de la veine porte et de la veine cave : pas de glycogène. Péritoine : liquide clair avec des leucocytes presque tous dépourvus de glycogène.

S'il s'agit d'une infection à évolution lente, de tuberculose chronique par exemple, le glycogène persiste dans le sang aussi longtemps que dure la réaction leucocytaire.

Cobaye inoculé depuis 34 jours avec bacille de tuberculose humaine. Ponction de l'abcès sous-cutané : pus crémeux, avec leucocytes renfermant des granulations inégales et réfringentes et quelquefois du glycogène. Présence en abondance du glycogène dans presque tous les polynucléaires du sang.

Chez un cobaye qui succombe avec des signes de tuberculose généralisée, 45 jours après l'inoculation du bacille sous la peau, on constate dans le sang du cœur la présence de polynucléaires à glycogène.

Chez un malade atteint de tuberculose cavitaires très avancée, on examine le sang pendant la vie. Avec le liquide iodé, gouttes glycogéniques peu volumineuses exsudées hors de nombreux polynucléaires. Avec les vapeurs d'iode, le glycogène dessine dans la plupart des polynucléaires de très fines granulations brunes. Dans l'expectoration, on retrouve du glycogène intracellulaire. Il y a parallélisme entre la présence et l'abondance du glycogène dans les polynucléaires du sang et des crachats. Bacilles très nombreux dans ces crachats.

Chez un autre tuberculeux avec lésions cavitaires, on observe avec les vapeurs d'iode une teinte foncée du protoplasme des leucocytes dans le sang. Par l'emploi du liquide iodé, très petites boules glycogéniques. La glycogénese est aussi peu accentuée que possible.

Dans d'autres cas de tuberculose pulmonaire, les crachats ne contenaient que quelques leucocytes à glycogène, par exemple chez un malade atteint de tuberculose pulmonaire au début (crachats avec bacilles)¹.

Faits curieux, on retrouve une glycogénese analogue, mais non plus prononcée, dans le sang et dans l'expectoration des malades atteints de pneumonie aiguë (pneumonie grippale dans trois cas². Les polynucléaires du sang, exposés aux vapeurs d'iode, présentent une teinte brune diffuse du protoplasme ou de fines granulations. Le liquide iodé donne issue à une très petite quantité de glycogène. Dans les leucocytes expectorés, on ne retrouve que quelques cellules glycogénées.

Dans l'expectoration des malades atteints de pneumonie ou de tuberculose pulmonaire, les cellules à poussière ne contiennent jamais de substance glycogène. Ce fait les relie à d'autres macrophages : les grands mononucléaires du péritoine et des abcès. Outre ces éléments, les leucocytes vrais et pseudo-éosinophiles sont toujours dépourvus de glycogène.

1. Sur coupes d'un tubercule, la périphérie se compose d'une couronne de globules blancs, de cellules migratrices, infiltrées de glycogène. « Dans ces tissus... le glycogène fait presque constamment défaut, sauf par exception dans quelques cellules lymphatiques marginales. » BRAULT, La production de glycogène dans les tissus qui avoisinent les tumeurs, *Arch. gén. de méd.*, 1899.

Pour prouver la participation des cellules hépatiques à l'édification du tubercule du foie, Straus constate « ... à l'intérieur de ces cellules, surtout des cellules marginales du nodule, la présence des grains de matière glycogène, comme ceux que l'on rencontre dans les cellules hépatiques normales ». *La tuberculose et son bacille*, 1895. A quoi Metchnikoff répond que la présence du glycogène est aussi bien une preuve en faveur de l'origine leucocytaire puisque les cellules migratrices contiennent cet hydrate de carbone.

2. EHRLICH, BRAULT (*Presse méd.*, janvier 1898) ont constaté histologiquement le glycogène intraleucocytaire dans le poumon pneumonique.

En résumé, il existe un rapport constant entre la glycogénèse de la circulation générale et la glycogénèse du foyer infecté. Comme l'hyperleucocytose, le glycogène des leucocytes du sang apparaît un peu après le début, suit une marche parallèle, puis disparaît après l'infection. Trouver le glycogène dans le sang équivaut à affirmer l'existence d'une réaction leucocytaire locale, d'un foyer inflammatoire. La réaction iodée des leucocytes du sang, preuve d'infection, acquiert la valeur d'un véritable signe clinique.

Ce signe révélateur est très sensible; on le retrouve non seulement dans les infections graves, les grandes suppurations, mais dans le cas d'inflammations peu prononcées. Nous allons le constater après injection de toxines. Chez un malade atteint de blennorrhagie ¹ aiguë au 20^e jour, on voyait nettement, dans le sang, des boules glycogéniques accolées aux polynucléaires. La présence du glycogène dans le sang se montre réactif de l'infection ² aussi délicat que l'hyperleucocytose et la polynucléose.

Puisque par une diapédèse en sens inverse, les leucocytes chargés de glycogène passent dans les vaisseaux sanguins, il est infiniment probable que les amœbocytes effectuent le même retour dans les voies lymphatiques. Si l'on examine chez un animal infecté le siège de l'inoculation, le sang de la circulation générale et la lymphe, on constate partout la même hyperleucocytose (même polynucléose dans notre expérience) et la même glycogénèse. Dans la lymphe comme dans le sang, les cellules à glycogène ont la même provenance : le foyer inflammatoire.

A l'état normal, la lymphe du canal thoracique ne contient pas de glycogène, de même que le sang ³. Nous nous sommes assurés histologiquement du fait avec la lymphe d'un chien opéré par M. Gley. Le liquide n'a pu être examiné que 16 heures après l'intervention. Il ne contenait pas de graisse (le dernier repas de l'animal datait de 12 heures au moins. (Anesthésie : morphine et chloroforme.)

1. Chez un autre blennorrhagique (écoulement datant de un mois, et orchite), il n'y avait sûrement pas de glycogène dans le sang.

2. La présence du glycogène dans le sang normal, niée par O. Nasse, Hoppe-Seyler, Woroschiloff, Prausnitz, etc... a été admise par Salomon, Kauffmann, Huppert, Czerny...

3. Dans la lymphe normale de la vache, Dastre a extrait 0,097 0/00 de glycogène.

Dans une deuxième expérience, chez un chien qui avait mangé depuis moins de 4 heures, la lymphe renfermait des matières grasses, mais pas de glycogène intracellulaire. (Anesthésie : éther.)

En cas d'infection, la lymphe contient du glycogène :

Un chien reçoit en injection intrapéritonéale 65 c. c. de culture en bouillon de 3 jours de streptocoque de la gourme. On provoque ainsi une polynucléose et une glycogénèse très abondantes.

Au bout de 23 heures on examine pendant la vie le sang de l'oreille et par ponction de l'abdomen l'exsudat péritonéal. Dans le sang, fin piqueté de glycogène intracellulaire. Dans le péritoine, polynucléaires nombreux remplis de glycogène.

Après avoir constaté la présence du glycogène dans le péritoine et le sang de l'oreille, on va à la recherche du canal thoracique.

La lymphe, à teinte opalescente, contient de nombreux globules blancs, quelques globules rouges; pas de graisse. Les leucocytes sont de deux sortes : des polynucléaires et surtout des mononucléaires, à noyau arrondi, à protoplasme peu abondant. Ces mononucléaires sont de diverses grandeurs, depuis le petit lymphocyte jusqu'à des cellules plus volumineuses que les polynucléaires. La recherche de glycogène est positive aussi bien dans les éléments mononucléaires que dans les leucocytes plurinucléés.

La présence du glycogène, l'existence de polynucléaires (anormale dans les voies lymphatiques) et l'hyperleucocytose constituent dans la lymphe trois signes de la réaction à l'infection.

A côté des infections se manifestant par la glycogénèse locale et sanguine, nous avons observé l'absence de glycogène dans des cas divers : inoculation massive de charbon chez le cobaye, pleurésie purulente datant de plusieurs mois (pleurésie polymicrobienne après gangrène traumatique du poumon), etc...

Quelle que soit la cause empêchant l'apparition du glycogène on retrouve la même concordance entre les leucocytes du foyer inflammatoire et les globules blancs du sang.

A la loi générale : le sang de l'homme atteint d'une maladie infectieuse contient toujours un nombre de leucocytes supérieur à la normale ¹ on peut ajouter : et dans certaines circonstances, du glycogène.

Ce n'est pas seulement contre les agents infectieux que s'établit la réaction des leucocytes et leur glycogénèse.

1. CANTACUZÈNE, Appareils et fonctions phagocytaires, *L'Année biologique*, 1896.

« Les phagocytes réagissent contre les toxines microbiennes » ¹.

L'injection de la toxine diphtérique provoque la glycogénèse cellulaire au point d'inoculation, et dans le sang l'hyperleucocytose et la présence du glycogène.

4 cobayes reçoivent en injection sous-cutanée des doses décroissantes de toxine diphtérique.

1^{er} cobaye : 3 c. c. d'une solution à 1 pour 10.

A la 15^e heure, on constate dans les leucocytes du sang pris à l'oreille, une très petite quantité de glycogène.

Le cobaye succombe en moins de 22 heures. A l'autopsie, peu de leucocytes et peu de glycogène au point d'inoculation,

2^e cobaye : 1 c. c. d'une solution à 1 pour 10.

A la 15^e heure, même glycogénèse du sang peu accentuée.

3^e cobaye : 1 c. c. d'une solution à 1 pour 50.

A la 16^e heure, faible glycogénèse du sang.

A l'autopsie (moins de 40 heures après l'inoculation), glycogène peu abondant dans les leucocytes du sang du cœur et les cellules migratrices de l'œdème sous-cutané.

4^e cobaye : 1 c. c. d'une solution à 1 0/0.

La glycogénèse est à peine appréciable à la 16^e heure, et fait défaut à l'autopsie (moins de 40 heures après l'inoculation) dans le sang et au point d'inoculation (absence d'œdème local).

L'injection de bacilles très virulents provoque une glycogénèse plus prononcée, plus abondante.

Un cobaye reçoit plusieurs doses mortelles d'un bacille diphtérique très virulent. A l'autopsie (mort en moins de 17 heures), le péritoine et les plèvres contiennent des leucocytes polynucléaires remplis de glycogène. En correspondance, les leucocytes pris dans le cœur se teignent nettement en brun acajou,

Chez un autre cobaye qui succombe en moins de 40 heures, le glycogène du sang, examiné à la 21^e heure, est moins abondant.

Armé de ces faits expérimentaux, il nous est aisé d'interpréter les faits cliniques. Chez 5 malades atteints de formes variées de la diphtérie, nous avons retrouvé une glycogénèse analogue.

1. METCHNIKOFF *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, et *Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines*, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1898.

Ce fait que le leucocyte, après injection de toxine, se remplit de glycogène le rapproche « de la cellule hépatique, incapable d'agir sur les poisons, quand elle cesse de contenir du glycogène ». ROGER, *Action du foie sur les poisons*, *Thèse méd.*, Paris, 1887.

(1) L..., 5 ans. Au moment de l'examen, broncho-pneumonie probable. T = 39°,6. Antérieurement tubé pour croup. Traité comme les autres malades par le sérum antidiphthérique.

(2) A..., 7 ans. Angine très accentuée, sans croup. Ce matin, T = 39°,7. La veille, 38°,4. Bacille moyen.

(3) T..., 5 ans. Croup diphthérique. A été tubé cette nuit. T = 39°,6 au moment de l'examen.

(4) M..., Croup tubé depuis 2 jours. T = 38°,2.

(5) R... 6 ans 1/2. Entré à l'hôpital pour un croup depuis 4 jours. A été tubé. La température n'a pas dépassé 37°. Peut être considéré comme guéri.

Dans chaque observation, même glycogénèse, peu abondante, dans tous les polynucléaires¹.

Avec la toxine tétanique (comme dans une expérience avec le microbe) la réaction locale cellulaire est peu ou pas prononcée, et le glycogène du sang peut être presque inappréciable.

Une série de cobayes reçoit en injection sous-cutanée des doses de toxine décroissantes : 3 c. c. à 1 0/50, 1 c. c. à 1 0/50, 1 c. c. à 1 0/200, et 1 c. c. à 1 0/300. Le premier succombe en moins de 65 heures, et l'on ne trouve de glycogène dans le sang ni à la 21^e, ni à la 41^e heure. Chez le deuxième cobaye, dans de rares leucocytes, quantité très minime de glycogène. Chez le dernier animal, qui ne présente pas de contracture de la patte, on ne constate pas de glycogène.

Cette conclusion : le glycogène des globules blancs se forme non pas dans le sang, non pas dans les organes hématopoïétiques, mais au point d'appel et d'action des cellules migratrices, cette conclusion soulève deux questions : la reproduction des leucocytes sur place et la synthèse du glycogène par le globule blanc.

On ne peut affirmer actuellement, de par l'histologie, la reproduction des leucocytes dans les foyers inflammatoires (absence de figures de division indirecte). Cependant cette théorie est admise par plusieurs auteurs. Il est très tentant de relier la glycogénèse à la prolifération cellulaire, de faire des polynucléaires, si riches en matière glycogène, des leucocytes reproducteurs. Aux lymphocytes, cellules jeunes, à glycogénèse foctale, s'opposent les grands macrophages, leucocytes vieilliss, incapables de se reproduire et dépourvus de glycogénèse.

En se basant sur la prolifération possible des éléments cellulaires dans l'abcès, on élimine une théorie qui ferait dériver

1. Chez un malade avec une angine non diphthérique, staphylococcique, il n'existait pas de réaction glycogénique.

le glycogène d'une substance préexistant dans les leucocytes du sang, manifestant sa présence, la diapédèse une fois effectuée.

Le globule blanc fait lui-même son glycogène dans l'exsudat, dans le liquide où il baigne. Nous avons vu que la quantité de substance glycogène est la même après introduction des sucres ou des agents de l'infection. En d'autres termes (et nous allons retrouver le même fait dans l'histoire du diabète) le leucocyte fabrique son glycogène, indépendamment de l'intervention des sucres.

Gabritchewsky, Goldberger et Weiss se rallient à la théorie d'Hoffmeister. Le glycogène se forme aux dépens des substances albuminoïdes, et en particulier des peptones, si abondantes dans le pus. Les peptones sont pour le leucocyte des aliments tout préparés, des substances directement assimilables et les véritables matériaux de la glycogénèse.

Nous possédons sur l'origine du glycogène cellulaire des renseignements incomplets; il est difficile de dire ce que devient le glycogène leucocytaire après sa disparition, soit chez l'animal, soit *in vitro*. Se forme-t-il du glucose comme dans le foie ou des corps gras, de l'acide lactique comme dans le muscle, de l'alcool ou de l'acide carbonique comme dans l'autophagie de la levure?

En tout cas, le glycogène peut persister longtemps dans les cellules retirées de l'organisme. Dans les autopsies, on trouverait le glycogène du foie, tantôt remarquablement conservé, tantôt détruit¹. Brault a retrouvé le glycogène dans des tumeurs extirpées depuis un certain temps.

Le fait importe au physiologiste : c'est la question de la diastase capable de transformer le glycogène. Actuellement, l'existence de cette diastase est discutée².

Nous avons cherché à nous rendre compte du temps de disparition de la substance glycogène. Chez deux cobayes, on

1. Külz, Clautrian ont montré que, 24 heures ou plus après la mort, le foie fournit les réactions du glycogène. De même, Bohm et Hoffmann montrent après 24 heures que le glycogène n'a diminué que de 50 0/0.

2. Un champignon, le Bolet, peut être abandonné pendant 8 jours sans que la quantité de glycogène semble diminuer (Clautrian). Chez le Phallus, Errera n'a pas réussi à trouver de ferment diastasique du glycogène. Kühne, dans la fleur de tan qui renferme 43 0/0 de glycogène, n'a pas rencontré de ferment saccharifiant. Pour Seegen « il est permis de douter que le foie renferme un ferment diastasique spécial ».

produit une péritonite à staphylocoques. Dans un cas, le microbe était vivant; dans l'autre, tué par l'ébullition. A la 6^e heure, l'exsudat péritonéal, très riche en substance glycogène, est placé dans une série de pipettes : les unes, à la température de la chambre, les autres à l'étuve à 37° et en milieu humide.

Au bout de 24 heures, les leucocytes semblent bien conservés, le glycogène est encore très net. Après 54 heures, la coloration brun acajou par l'iode est encore visible dans un grand nombre de cellules. Cependant, dans l'exsudat avec staphylocoques vivants, les microbes ont proliféré soit librement dans le liquide, soit à l'intérieur des phagocytes. A la 78^e heure, on retrouve encore du glycogène très net dans les pipettes avec exsudat à staphylocoque vivant, pipettes placées à la température de la chambre, à sec.

Nous pouvons donc conclure à la persistance remarquable du glycogène intraleucocytaire, placé dans certaines conditions en dehors de l'organisme.

APPLICATIONS A LA CLINIQUE. — MALADIES INFECTIEUSES, LEUCÉMIE,
DIABÈTE

De la présence de la réaction iodée brun acajou dans le sang, peut-on formuler quelques conclusions applicables à la clinique? Le médecin peut-il tirer profit de la constatation de l'existence du glycogène intraleucocytaire? Ou bien cette notion n'intéresse-t-elle que la biologie de la cellule?

Nous savons que le foyer primitif de la glycogénèse c'est le foyer de réaction leucocytaire. La glycogénèse du sang nous renseigne simplement sur l'état des amœbocytes dans ce centre d'activité cellulaire.

Pour le médecin comme pour le bactériologiste, glycogène dans le sang est synonyme d'infection. Le fait ainsi affirmé soulève deux questions. Tout d'abord, la réaction iodée est-elle constante dans tous les cas d'infection? Nous savons qu'il n'en est rien, que certaines collections purulentes à leucocytes dégénérés ou indifférents ne s'accompagneront pas du passage du glycogène dans le sang. Chez un malade atteint d'un vaste abcès périnéphrétique, avec 40° de température, il n'y avait pour ainsi dire de glycogène ni dans le sang, ni dans le pus.

La réaction brun acajou des leucocytes du sang peut-elle rendre service en cas de diagnostic épineux, de suppuration cachée, péritonéale par exemple? Ou bien, est-ce simplement un signe de laboratoire? Goldberger et Weiss¹ ont examiné un certain nombre de malades de chirurgie. Pour eux, la réaction iodée du sang peut dénoncer un foyer de suppuration douteux, le procédé de recherche est très simple, sans cause d'erreur, à la portée de tous, et ces auteurs concluent en faveur de la méthode.

Constater le glycogène dans le sang équivaut à affirmer l'existence d'un foyer leucocytaire inflammatoire; c'est un signe diagnostique, peut-on en faire un signe de pronostic²? Nous pouvons répondre négativement.

D'une façon générale, les signes de laboratoire ont l'élégance et la précision des faits expérimentaux. Leur présence a une valeur diagnostique pour ainsi dire absolue, et au contraire une importance pronostique discutable. Ainsi, le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde, la découverte du bacille de Koch dans les crachats, du bacille de Löffler dans les fausses membranes permettent d'affirmer l'existence de la diphtérie, de la tuberculose ou de la fièvre typhoïde. Mais s'en servir pour le pronostic de la maladie, suivant le degré de l'agglutination, le nombre des bacilles de Koch, ou la longueur des bacilles de la diphtérie, c'est interpréter et s'aventurer sur un terrain peu solide. Nous pouvons tenir le même raisonnement à propos du glycogène. L'histoire d'un malade atteint d'appendicite avec abcès péritonéal en est la preuve. Chez ce malade, le glycogène était très net, très abondant dans les leucocytes du sang. Se permettre un pronostic en se basant sur la réaction glycogénique cellulaire, c'était s'exposer à l'erreur, à un démenti par les faits cliniques. De même, le sang contenait du glycogène chez un blennorrhagique comme dans un cas de phlegmon diffus mortel, et indistinctement chez des malades atteints de diphtérie (angines, croups avec ou sans broncho-pneumonie), sans que l'on puisse en tirer une indication de bénignité ou de gravité de l'affection.

1. *Wiener Klin. Woch.*, 1897, 24 juin, p. 601.

2. Brault, « par l'appréciation de la quantité de substance amylacée contenue dans les cellules, tire une indication pronostique fâcheuse, en rapport étroit avec la puissance d'accroissement du tissu morbide... ». *La Glycogénèse dans les tumeurs*.

La glycogénèse se superpose à l'hyperleucocytose du sang, en particulier la polynucléose. Mais si l'augmentation de nombre des globules blancs a été donnée comme un élément d'appréciation de la malignité des maladies, la glycogénèse ne peut pas être un des éléments de l'hémopronostic.

Par contre, la glycogénèse nous renseigne sur la provenance des cellules migratrices du sang. Au cours des infections, on a constaté des modifications du sérum (état du réticulum de fibrine, présence de substances toxiques, et antitoxiques, d'agglutinines, etc.), des variations dans la qualité et la quantité des globules rouges et des leucocytes. L'étude de ces éléments cellulaires est dirigée par deux notions. D'une part, la présence des cellules provenant et prouvant l'intervention des organes hématopoïétiques (les hématies nucléées, par exemple, ont pour point de départ la moelle osseuse). D'autre part, l'importance du rôle physiologique de certains leucocytes, les phagocytes de Metchnikoff. De sorte qu'une cellule migratrice dans le sang d'un malade infecté peut avoir au moins deux origines, les organes hématopoïétiques ou le passage par le foyer inflammatoire. Dans ce dernier cas, le globule blanc prend avec l'iode une teinte brun acajou qui permet de le reconnaître comme un réactif de l'infection.

Dans une maladie probablement non infectieuse, où l'hyperleucocytose est très marquée, la leucémie, Salomon, Gabritchewsky, admettent la présence du glycogène dans le sang. Chez un individu atteint de leucémie ganglionnaire, l'augmentation du nombre des leucocytes (70,000) portait surtout sur les éléments d'origine lymphatique, en particulier les lymphocytes. Il n'y avait pas de glycogène dans le sang.

De toutes les catégories de maladies, c'est dans le diabète, semble-t-il, que la glycogénèse doit apparaître avec toute sa netteté. Cl. Bernard, chez l'animal sain, a démontré les relations étroites qui unissent le sucre du sang et le glycogène hépatique. Chez le diabétique, on sait qu'il y a hyperglycémie. Y a-t-il comme corrélation une hyperglycogénie du sang¹?

Prenons comme exemple un malade atteint de suppurations

1. Gabritchewsky a constaté la présence du glycogène dans le sang des diabétiques. De même, Kauffmann, glycogène dans le sang chez les animaux normaux et diabétiques. *Soc. de biol.*, 1895.

multiples, anthrax, furoncles, panaris. Nous pourrions ainsi comparer les leucocytes du sang et du pus. La glycogénèse était extrêmement prononcée. Les cellules de pus traitées par le liquide iodo-ioduré laissaient sourdre des gouttes volumineuses de substance glycogène formant une véritable émulsion. De même, les globules blancs du sang présentaient la coloration brun acajou caractéristique. Chez deux diabétiques⁴ atteints de suppurations cutanées analogues, il y avait une même abondance du glycogène leucocytaire.

De ces deux cas, peut-on conclure que la présence du glycogène dans le sang est un signe du diabète, comme l'admettent certains auteurs? Évidemment non, et cela pour deux raisons. En premier lieu, nous savons que les globules blancs, placés dans un milieu sucré, font indirectement la synthèse de leur glycogène. D'autre part, nous avons vu la glycogénèse leucocytaire se manifester dans des circonstances variées. Le pus blennorrhagique est aussi riche en substance glycogène que le pus de notre diabétique. C'est dire que la glycogénèse se produit chez le malade atteint de diabète comme chez un malade infecté. On retrouve le même parallélisme, les mêmes variations cellulaires entre le sang et le foyer inflammatoire. A côté du sang et du pus contenant du glycogène en grande quantité, nous allons trouver tous les intermédiaires jusqu'à l'absence de substance glycogène intraleucocytaire qui est la règle chez l'homme sain, comme chez le diabétique.

Chez une malade avec gangrène diabétique, le pus polymicrobien était très pauvre en glycogène (1 leucocyte sur 6). Et dans le sang, il était exceptionnel de constater la coloration brun acajou intracellulaire.

Dans un cas de panaris chez une diabétique, le pus et le sang se montraient totalement dépourvus de glycogène.

Dans les cas de diabète non compliqués d'infection (nous en avons réuni 8 observations), nous n'avons jamais trouvé trace de glycogène dans les leucocytes des voies sanguines.

Nous sommes en droit de conclure : chez les diabétiques, la réaction iodée du sang prouve l'absence de l'hyperglycogénie leucocytaire.

4. Ces deux malades guérissent très rapidement (phagocytose totale des microbes et glycogénèse très abondante).

On ne peut objecter le degré de l'hyperglycémie. Les malades à suppurations cutanées multiples avaient dans l'urine 71 et 57 grammes de sucre par litre. Mais dans les autres cas, sans glycogène des globules blancs, il y avait respectivement 84 granimes, 63 grammes, 5 grammes, etc..., de sucre par litre.

La forme du diabète ne semble pas influencer cette glycogénèse cellulaire. Les deux malades à glycogénèse abondante étaient des obèses, nullement soupçonnés de diabète pancréatique.

Nous sommes d'accord avec les auteurs qui n'ont pas constaté chez le diabétique la constance ou l'augmentation de la substance glycogène¹.

CHIMIE ET HISTOCHIMIE DE GLYCOGÈNE

A la fin de ce travail se place une question préjudicielle. Cette substance intraprotoplasmique, colorable en brun acajou, est-elle du glycogène, c'est-à-dire un hydrate de carbone à composition définie, capable de donner par voie d'analyse une série de corps connus? En d'autres termes, les données de la chimie cadrent-elles avec les résultats obtenus histologiquement? Ou bien la réaction donnée par l'iode n'aurait-elle qu'une vague signification?

Parmi les substances brunies par l'iode et pouvant simuler le glycogène, on a signalé les corps gras, la myéline des nerfs

1. Dans le foie, Frerichs (*Traité du diabète*), par des ponctions faites sur le vivant, et à l'autopsie, a rencontré le glycogène irrégulièrement. De même, Straus, dans le foie des malades morts diabétiques.

Dans le rein, Straus n'a pas retrouvé la lésion d'Ehrlich Armanni dans tous les cas de diabète. (Contribution à l'étude des lésions histologiques du rein dans le diabète sucré, *Arch. de physiologie*, 1885, et *Arch. de physiol.*, 1887.) Lépine admet comme élément pathogénique du diabète « l'inaptitude des cellules hépatiques à posséder le glycogène ». Sur la pathogénie des diabètes, *Revue de médecine*, 1896.

Lenoble a fait la recherche négative du glycogène dans le sang de deux diabétiques atteints de tuberculose pulmonaire. (Caractères sémiologiques du caillot et du sérum. *Thèse doct. méd.*, Paris, 1898.)

2. Les caractères histochimiques que l'on peut observer dans la cellule (méthode microchimique de Errera) sont les suivants : aspect opalescent des pseudosolutions, faible réfringence. Précipitation par l'alcool, l'acide acétique, etc... Coloration par l'iode (en vapeurs, en solutions iodo-iodurées), non colorabilité par l'alcool iodé fort. Absorption du glycogène, phénomène de teinture et non combinaison colorée : instabilité de la teinte brun acajou : décoloration par l'eau, l'alcool, l'éther, le sulfure de carbone... et l'amidon soluble. Décoloration par la chaleur et réapparition de la teinte primitive à froid, etc...

(Huppert)¹. Mais, dans la moelle osseuse, dans le chyle, dans le pus, nous savons distinguer les globules de graisse des globules de glycogène. De même pour les caractères spéciaux de l'amyloïde.

Divers travaux montrent la concordance qui relie le glycogène extrait chimiquement et le glycogène observé histologiquement. Ainsi Cl. Bernard pour le foie, le muscle chez l'adulte, la peau chez le fœtus, Errera, Clautrian, ont étudié le glycogène dans les végétaux, par les deux méthodes, analyse chimique et examen histologique. Selon Ranvier², « les globules blancs du sang donnent avec l'iode les réactions de la matière glycogène ». Dans le pus, Huppert a dosé le glycogène; il l'a vu varier depuis des traces jusqu'à 167 milligrammes chez l'homme. Chimiquement, Salomon, Kühne, Jaffé, Kramer³, ont extrait le glycogène du pus. Dans les leucocytes des abcès, Huppert, Lilienfeld ont réuni les deux ordres de preuves, chimique et histologique. M. Bourcet a eu la complaisance de faire la recherche chimique du glycogène par le procédé de M. A. Gautier. Dans deux litres et demi de pus provenant d'un abcès froid par congestion, il n'y avait pas trace de glycogène et le fait était d'accord avec l'absence de réaction brun acajou dans les leucocytes granuleux, désagregés.

En résumé, on ne trouve dans la bibliographie aucune note discordante sur les relations du glycogène examiné dans les tissus ou par voie d'analyse chimique.

Cette analogie va même plus loin; elle relie entre eux les divers glycogènes: le glycogène des cellules jeunes, embryonnaires et le glycogène de réserve du placenta; le glycogène des végétaux et celui des cellules animales. Elle identifie même le glycogène physiologique et le glycogène pathologique.

Du reste, si la chimie ne peut actuellement préciser plus complètement les relations du glycogène et des albuminoïdes, le nombre complexe de ses molécules, si le glycogène n'a pu être obtenu cristallisé, l'iode constitue pour l'histologiste un réactif aussi délicat que le réactif des graisses, l'acide osmique.

1. HUPPERT, *Zeits. f. phys. Chem.*, 1894, t. XVIII. *Ueber das Vorkommen von Glykogen von Blut und Eiter.*

2. RAUVIER, *Tr. technique d'histologie.*

3. Cités par Tollens.

L'iode nous renseigne sur les variations de composition du protoplasme cellulaire.

Même s'il y avait des glycogènes multiples avec leur origine cellulaire variable, même si le glycogène des cellules du pus était différent du glycogène des cellules hépatiques, un fait dominerait l'histoire de cette substance : son rôle en physiologie générale comme preuve de vitalité, comme élément du problème de la nutrition cellulaire.

Notre maître, le professeur Metchnikoff sait combien nous avons été touché par son aimable accueil. Nous devons remercier aussi les directeurs, MM. Duclaux et Roux, et tout le personnel de l'Institut Pasteur.

